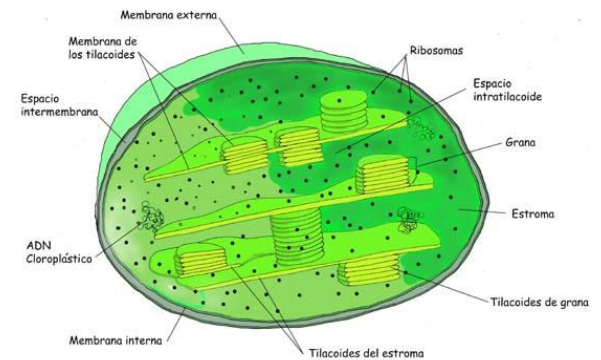
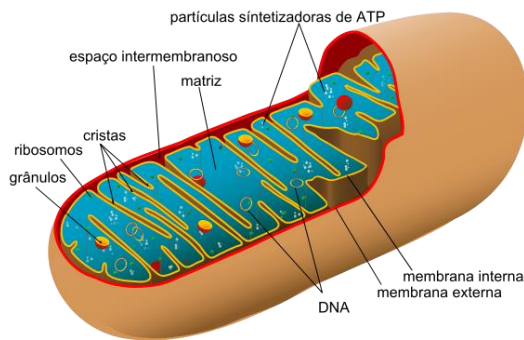
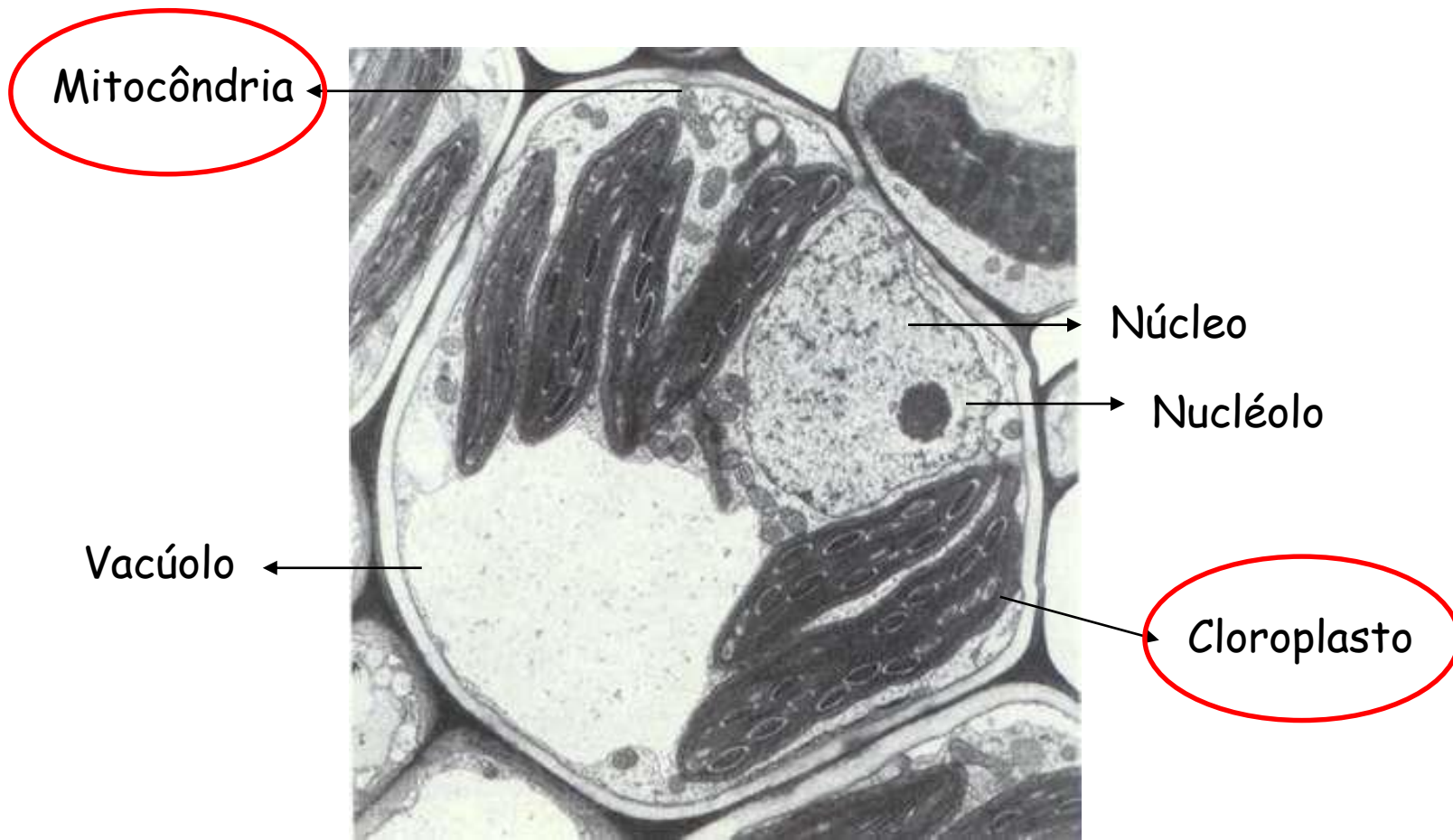


Biologia Celular

Mitocôndria e Cloroplasto

Ricardo Antunes de Azevedo





Organelas transdutoras de energia são capazes de produzir e transformar energia.

Mecanismos de obtenção de energia

Autotróficos:

$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Glicose (molécula orgânica)} - \text{fotossíntese.}$



Células vegetais, com cloroplastos (que têm clorofila), absorvem energia luminosa transformando-a em energia química armazenada em ligações covalentes estabelecidas entre átomos de moléculas orgânicas (aminoácidos, lipídios, carboidratos, etc).

Heterotróficos:



Obtém energia de hidratos de carbono, gorduras e proteínas sintetizadas pelos organismos autotróficos;

A energia é liberada principalmente pela combustão com O_2 da atmosfera (*respiração aeróbica*);

A liberação de H_2O de CO_2 pelos organismos heterotróficos (*fosforilação oxidativa*) ocorre nas mitocôndrias e completa o *ciclo de energia*.

I. Mitocôndria

I.1 Estrutura

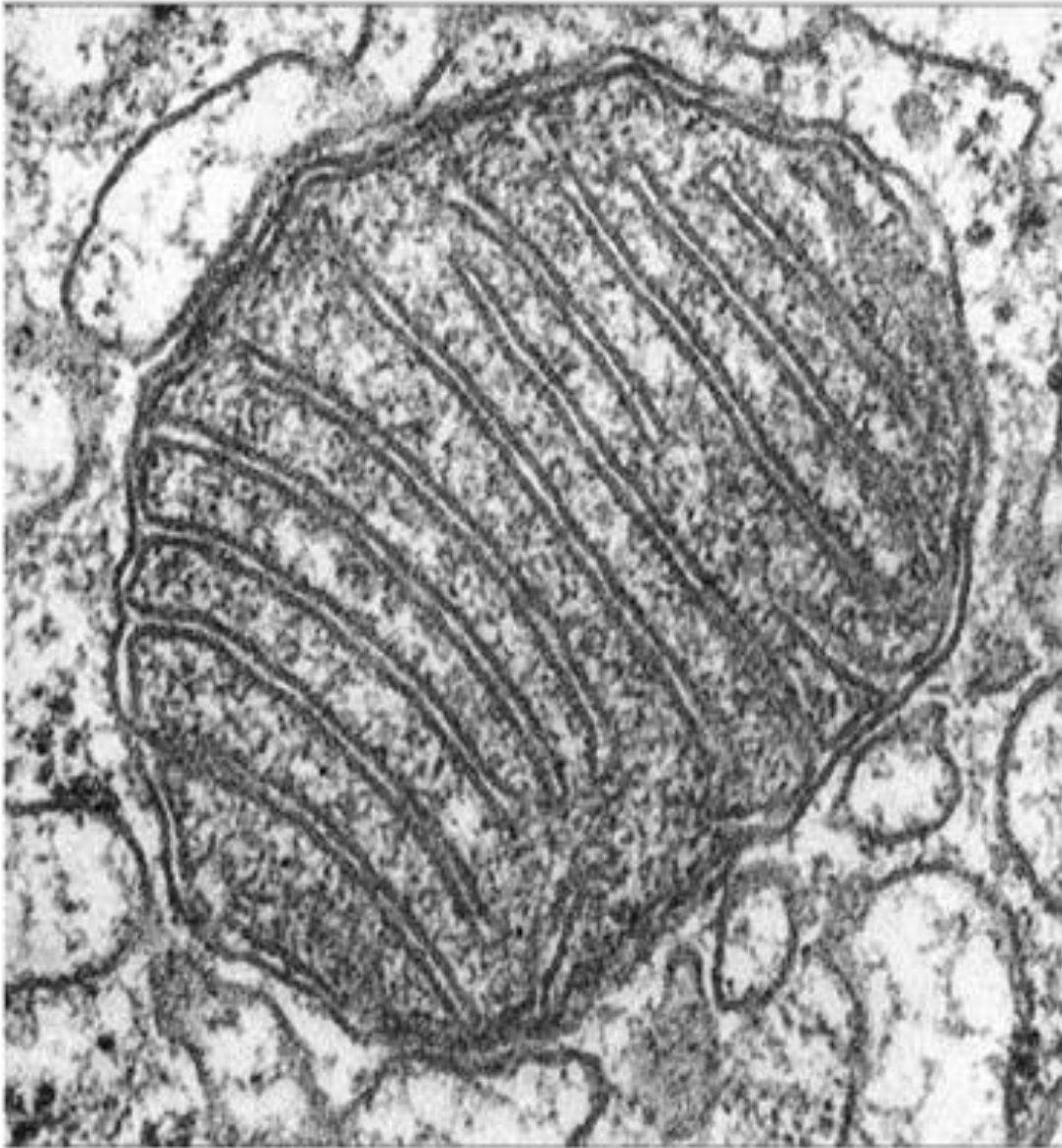
Organela limitada por membrana;

Gera energia química na forma de ATP, utilizado nos processos metabólicos celulares;

Em 1894, descrita por Altmann;

Em 1913, Warburg observou que enzimas respiratórias estavam associadas a partículas citoplasmáticas;

Em 1950, verificou-se a organização estrutural da mitocôndria por microscopia eletrônica.



100 nm

Mitocôndria

diâmetro 0,5 a 1,0 μm

comprimento 0,5 a 10 μm

Possui duas membranas:

•**Externa:**

Permeável (presença de porinas (proteínas transmembranares, responsáveis pela difusão de pequenos metabolitos como açucares, aminoácidos e ions), assim como a presença de grandes quantidades de colesterol);

•**Interna:**

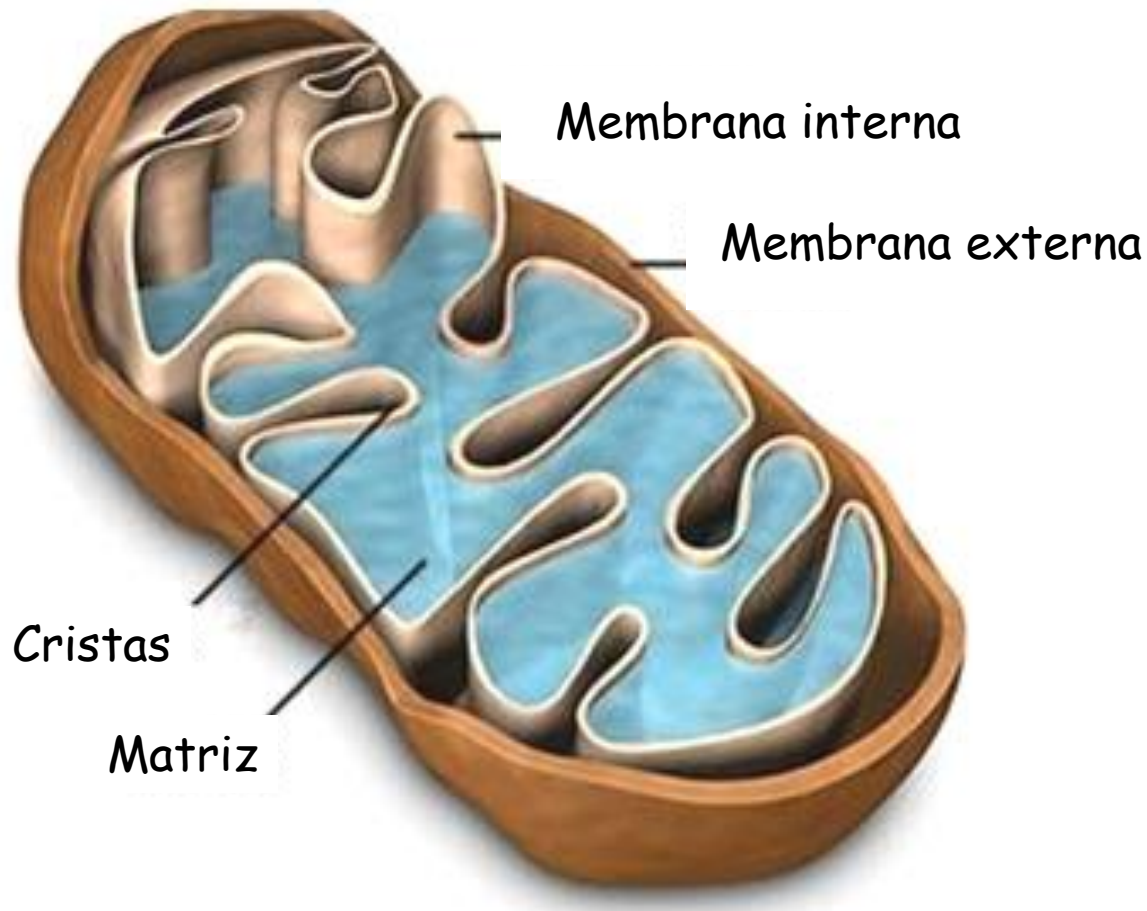
Invaginações formando cristas;

Alta permeabilidade seletiva;

Rica em proteínas:

- Enzimas e proteínas que constituem a cadeia transportadora de elétrons;
- ATP-sintetase;
- Proteínas que fazem parte de múltiplos sistemas de transporte ativo.

Mitocôndria



mtDNA



Na matriz encontram-se:

Pequenos ribossomos (mitorribossomos);

Uma ou mais moléculas de DNA circular, RNAs, H₂O, Sais;

Proteínas (enzimas respiratórias e para síntese proteica);

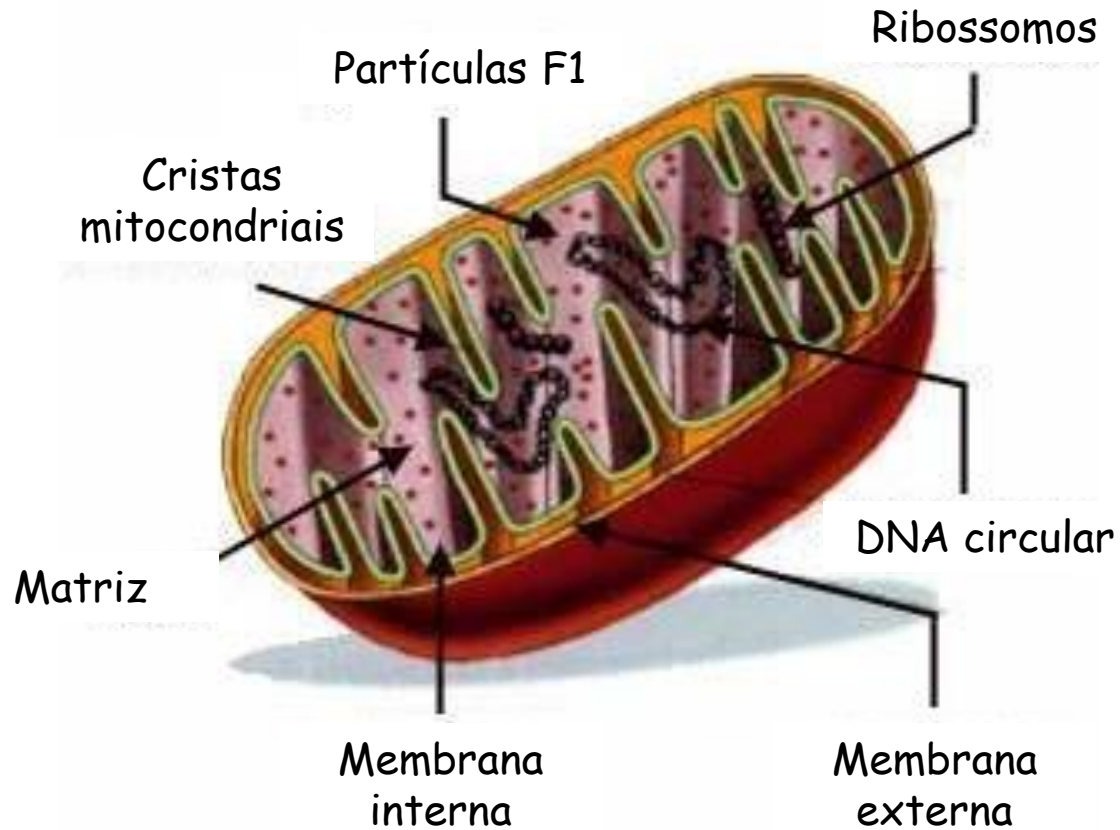
A enzima ATP sintetase (ou sintase) que está envolvida na síntese de ATP:

A ATP sintetase consiste em duas regiões:

- A parte F_O dentro da membrana (O: Oligomicina, antibiótico que inibe a unidade F_O).
- A parte F₁ da ATP sintetase está acima da membrana, dentro da matriz da mitocôndria.

Centenas de enzimas, entre as quais estão relacionadas com o ciclo de Krebs, β-oxidação de ácidos graxos e com a replicação, transcrição e tradução do DNA mitocondrial.

Estrutura interna da mitocôndria



I.2 Função da mitocôndria

Síntese de ATP;

Síntese de hormônios esteróides e o desencadeamento da apoptose (morte celular programada);

A mitocôndria de plantas têm funções especializadas como: sítio para a síntese de vitamina C, ácido fólico, ácido lipóico e biotina; estresse oxidativo;

A maioria das células vegetais contém centenas de mitocôndrias e este número está relacionado a demanda de ATP.

I.3 Composição química

Pode-se isolar seus componentes por centrifugação e obter subfrações;

Tratamento com solução hipotônica: as mitocôndrias ficam túrgidas e rompe-se a membrana externa; permanecem a membrana interna e a matriz (*mitoplasto*). É possível separar por centrifugação os resíduos da membrana externa quebrada;

Tratamento mecânico ou com solução hipotônica seguidos de centrifugação: podem ser empregados para separar as subfrações matriz e membrana interna;

A matriz contém todas as enzimas do Ciclo de Krebs, DNA e a maquinaria para síntese de proteínas;

A membrana interna contém os componentes da cadeia respiratória, fosforilação oxidativa (síntese de ATP) e proteínas específicas de transporte.

I.4 Energia química e ATP

A energia química ou potencial está aprisionada nas ligações covalentes entre os átomos de uma molécula;

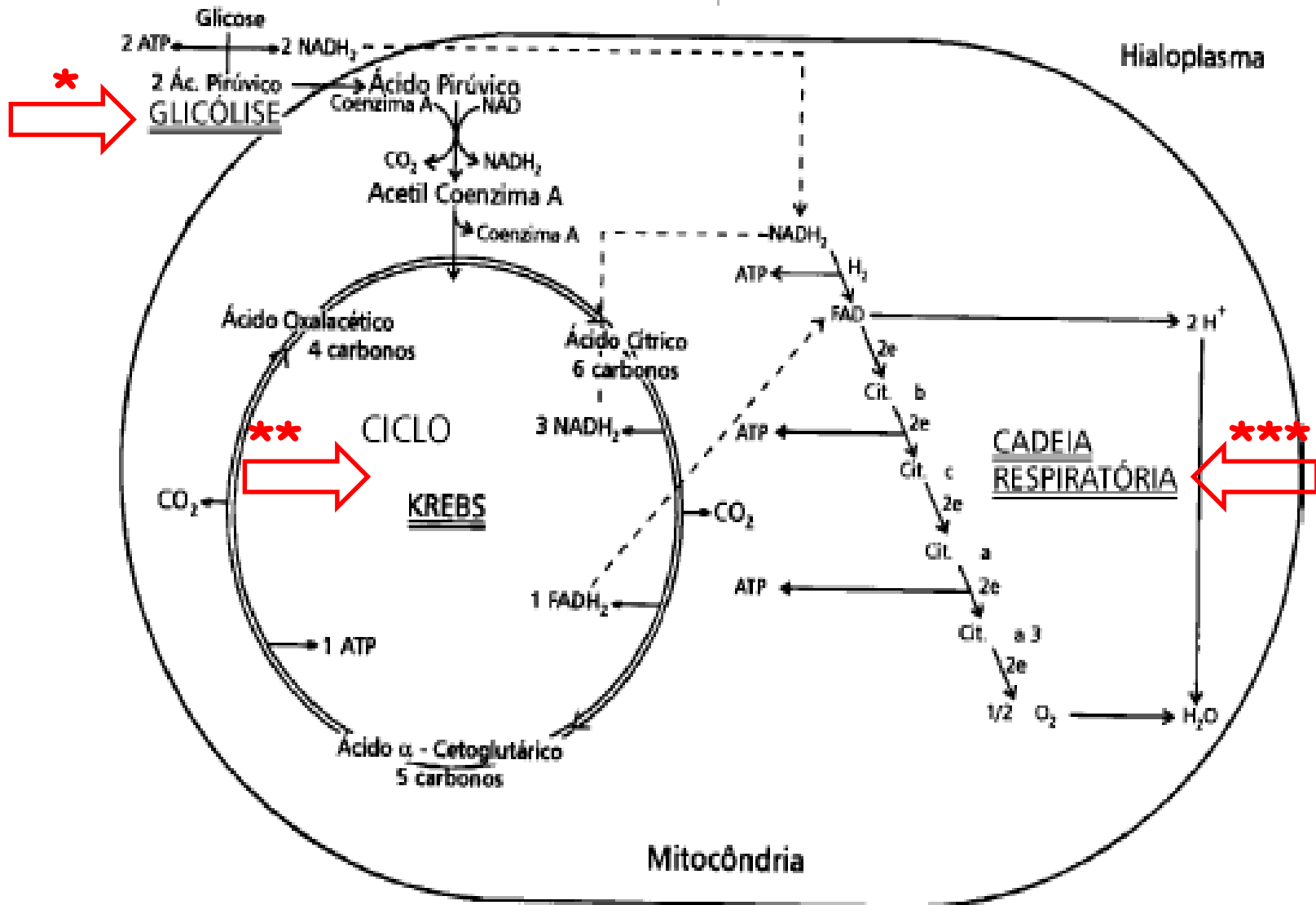
Essa energia é liberada de uma forma gradual, controlada por enzimas e é utilizada pela célula para várias funções:

- Sintetizar novas moléculas (proteínas, carboidratos, lipídios);
- Realizar trabalhos mecânicos (divisão celular, ciclose);
- Realizar transporte ativo (contra gradientes osmóticos ou iônicos);
- Manter potenciais de membrana (condução e transmissão de impulsos nervosos);
- Realizar secreção celular;
- Produzir energia radiante (bioluminescência);

O ATP (adenosina trifosfato) é encontrado em todas as células e apresenta duas ligações terminais com potencial energético muito mais alto que todas as ligações químicas;

O ATP é composto por adenina, ribose e 3 moléculas de ácido fosfórico, gerando 7300 calorias na hidrólise do ATP a ADP+Pi.

Respiração celular - Síntese de ATP



*GLICÓLISE

1. Phosphorylation of glucose by ATP.

2-3. Rearrangement, followed by a second ATP phosphorylation.

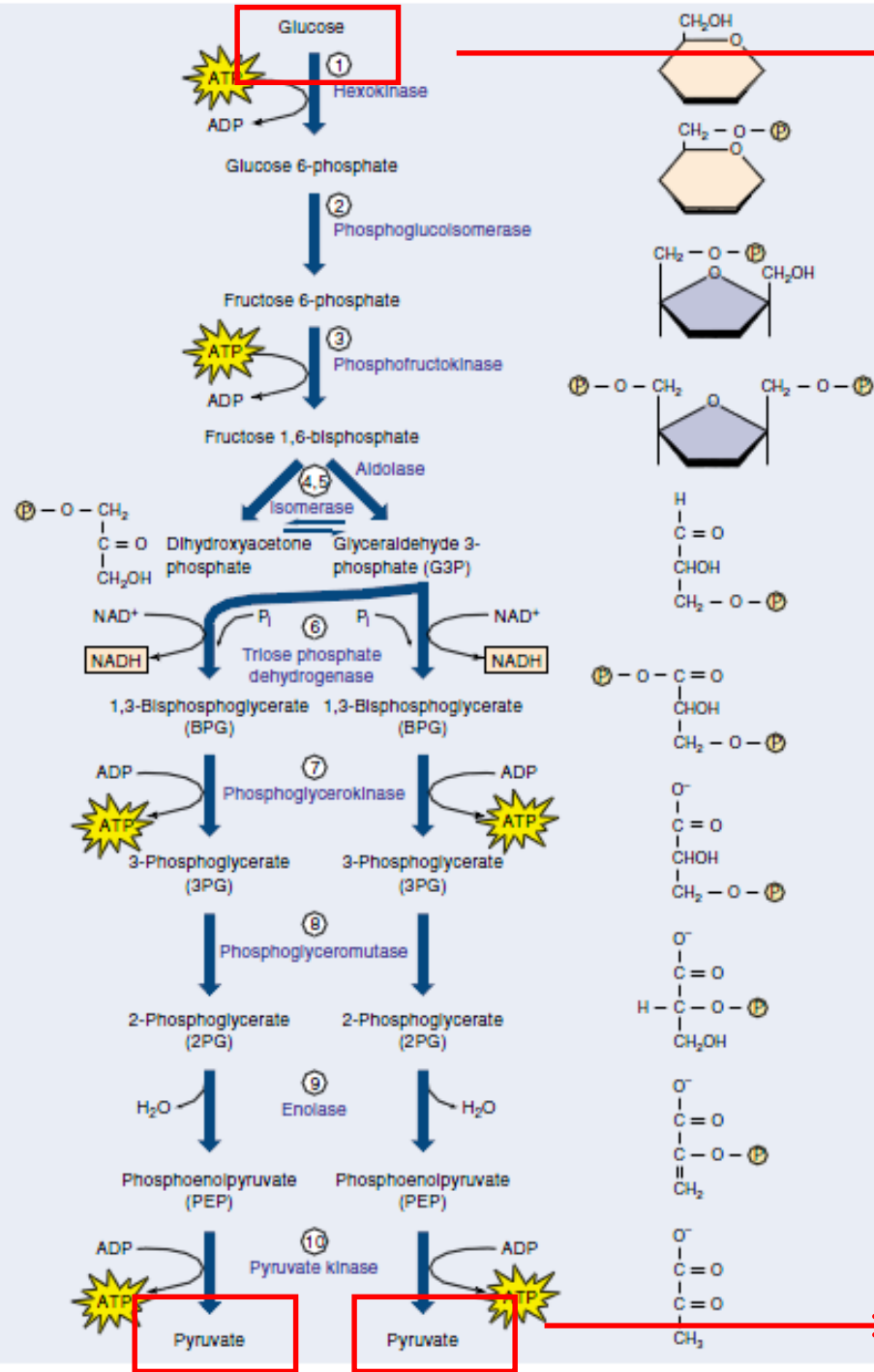
4-5. The six-carbon molecule is split into two three-carbon molecules—one G3P, another that is converted into G3P in another reaction.

6. Oxidation followed by phosphorylation produces two NADH molecules and two molecules of BPG, each with one high-energy phosphate bond.

7. Removal of high-energy phosphate by two ADP molecules produces two ATP molecules and leaves two 3PG molecules.

8-9. Removal of water yields two PEP molecules, each with a high-energy phosphate bond.

10. Removal of high-energy phosphate by two ADP molecules produces two ATP molecules and two pyruvate molecules.



Glicose

Piruvato

I.5 Ciclo de Krebs ou Ciclo do Ácido Tricarboxílico

Ocorre na matriz mitocondrial;

É a primeira sequencia de reações que ocorrem numa via comum de degradação de moléculas fornecedoras de energia (carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos) - a oxidação dos grupos acetila libera a energia armazenada nas ligações fosfato; isso ocorre no citoplasma;

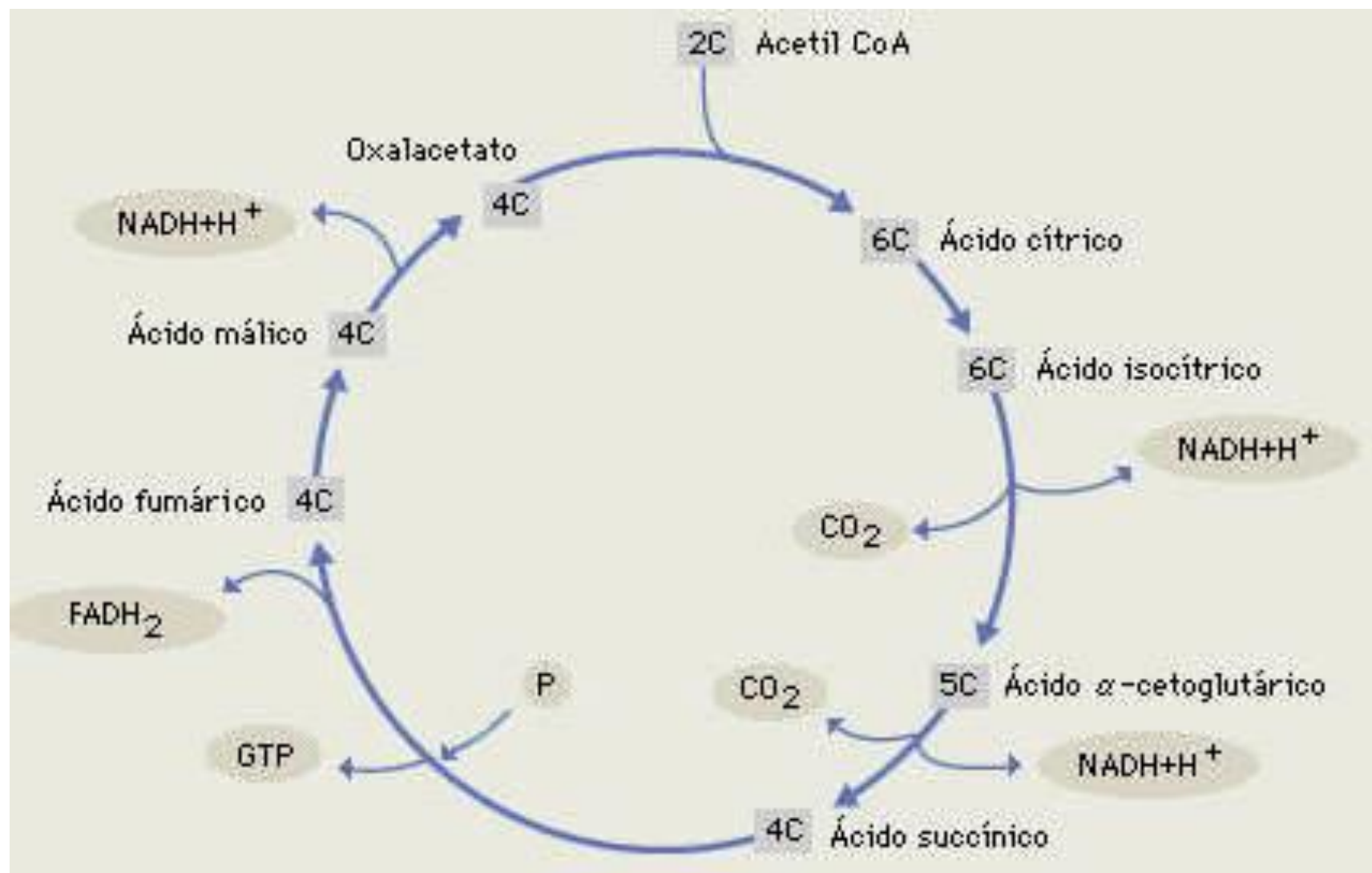
Os grupos acetila penetram na mitocôndria onde sofrem transformações em duas etapas:

- Grupos acetila participam do ciclo de Krebs ligados à acetilcoenzima A (CoA) produzindo duas moléculas de CO_2 e átomos ou prótons (8) de hidrogênio (H^+).

- Os H^+ são captados por moléculas aceptoras, da cadeia respiratória: NAD e FAD e combinam-se com O_2 para formar H_2O . Esse processo também gera ATP pela fosforilação do ADP.

(NAD: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo; FAD: Flavina Adenina Dinucleotídeo)

****CICLO DE KREBS**



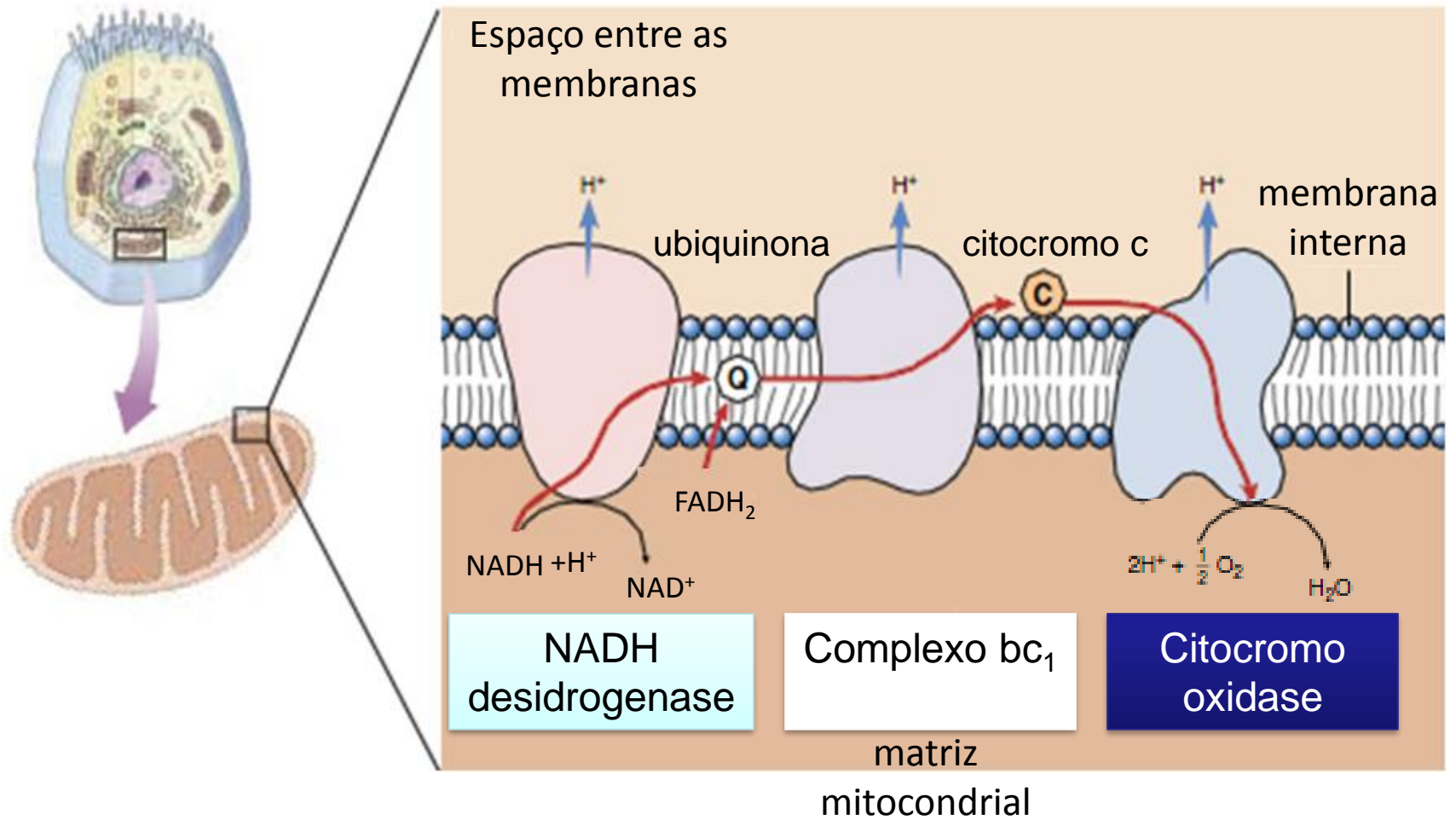
I.6 Transporte de elétrons e fosforilação oxidativa

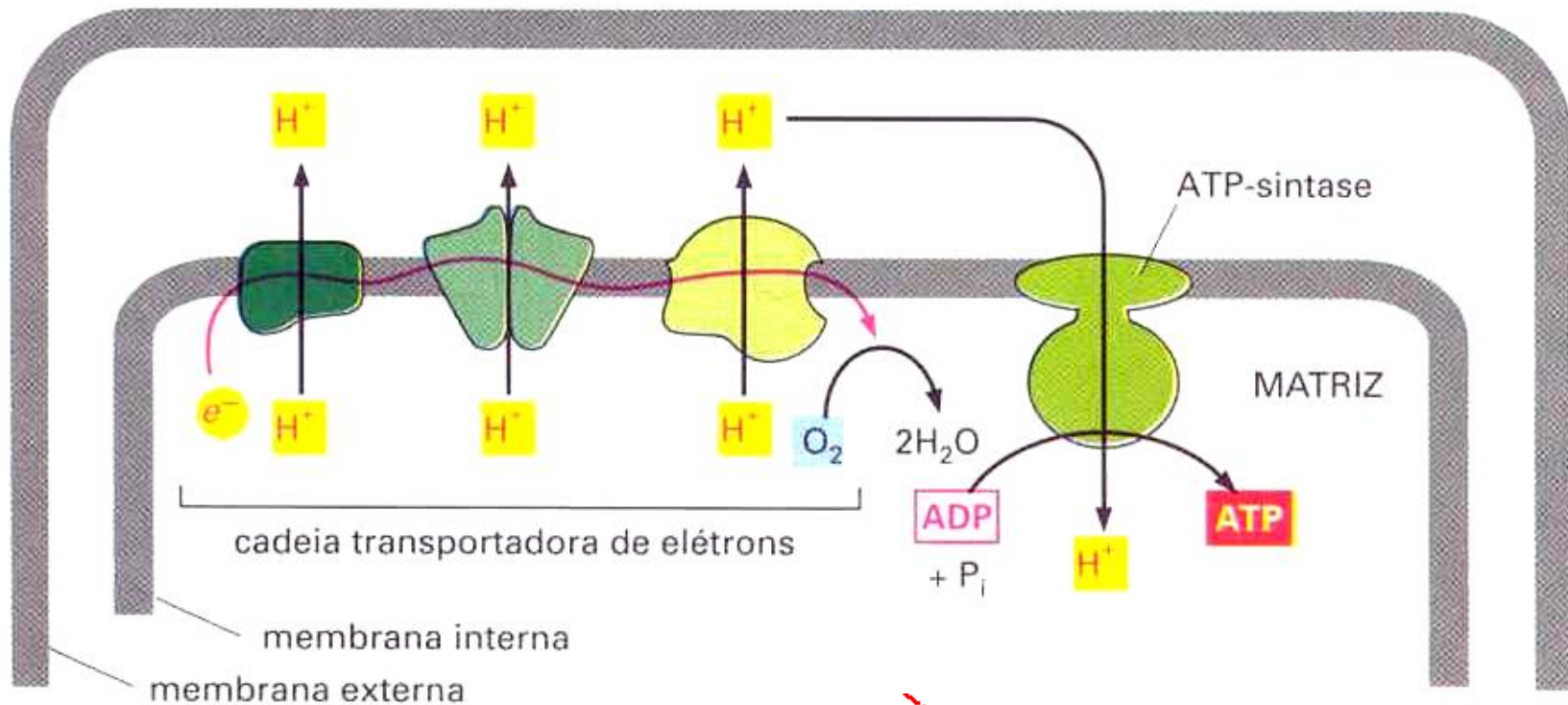
Os átomos de H^+ do Ciclo de Krebs entram na *cadeia respiratória* aceitos pelas coenzimas NAD e FAD (NAD: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo; FAD: Flavina Adenina Dinucleotídeo);

São então conduzidos ao longo da cadeia respiratória por transportadores de elétrons (citocromos) que sofrem sucessivas oxidações e reduções seguindo um gradiente de potencial redox;

A membrana interna contém os citocromos *b*, *c*, *c1*, *a* e *a3*, que formam uma espécie de cadeia.

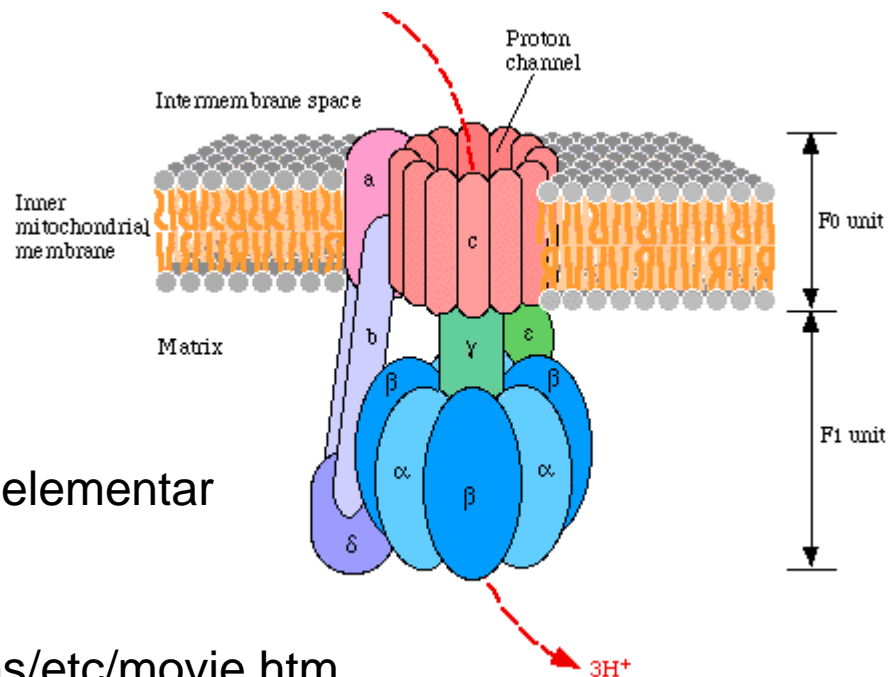
***CADEIA RESPIRATÓRIA





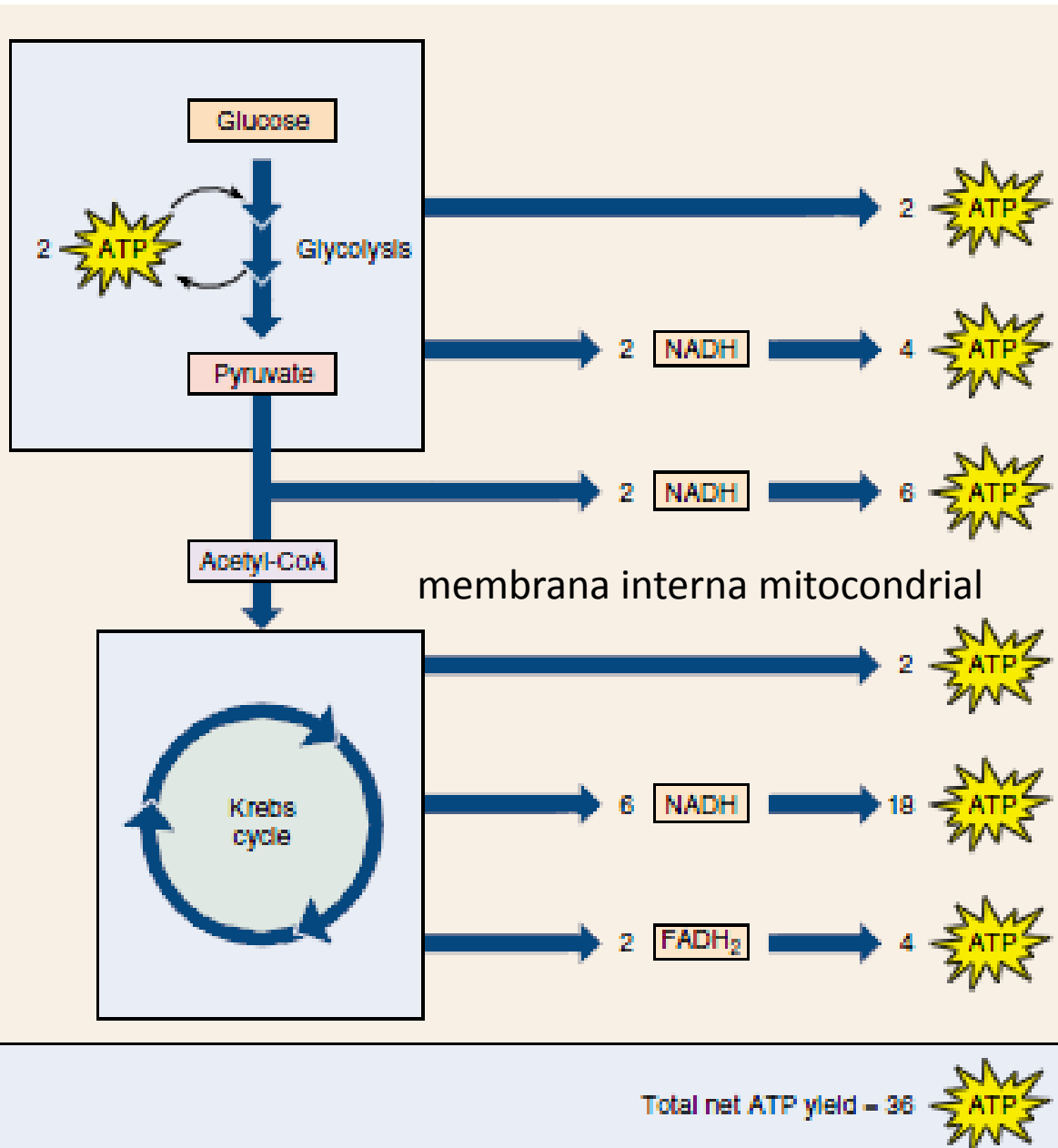
(A)

corpúsculo elementar



citoplasma

matriz
mitocondrial



I.7 Sistema genético

A mitocôndria apresenta um sistema genético semi-autônomo;

Apresenta uma ou mais moléculas de DNA circular;

Apresenta uma RNA-polimerase, sendo capazes de gerar RNA mensageiros (RNAm) a partir de seu DNA;

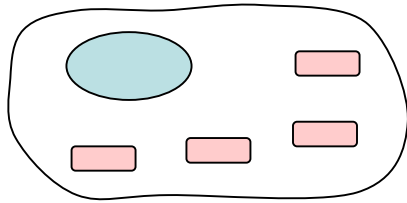
O DNA mitocondrial (DNAm) codifica:

- O RNA ribossômico (RNAr) da mitocôndria.
- 19 RNA transportadores (RNAt).
- RNAm para 20 ou mais proteínas que são incorporadas à membrana interna;

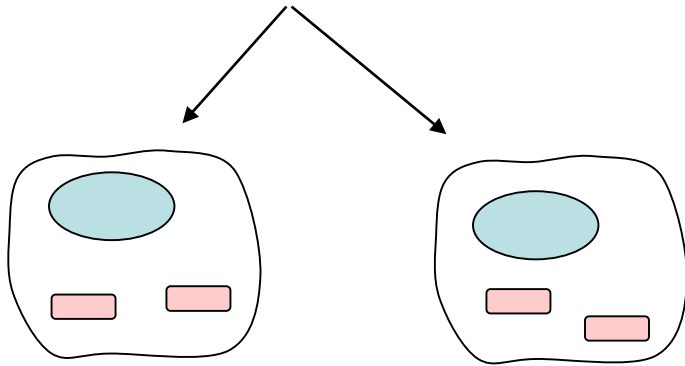
A maioria das proteínas e enzimas mitocondriais são codificadas por genes nucleares e sintetizadas nos ribossomos extra-mitocondriais;

A proteína mitocondrial emprega N-formilmetionina como aminoácido iniciador, portanto assemelha-se à síntese que ocorre em bactérias.

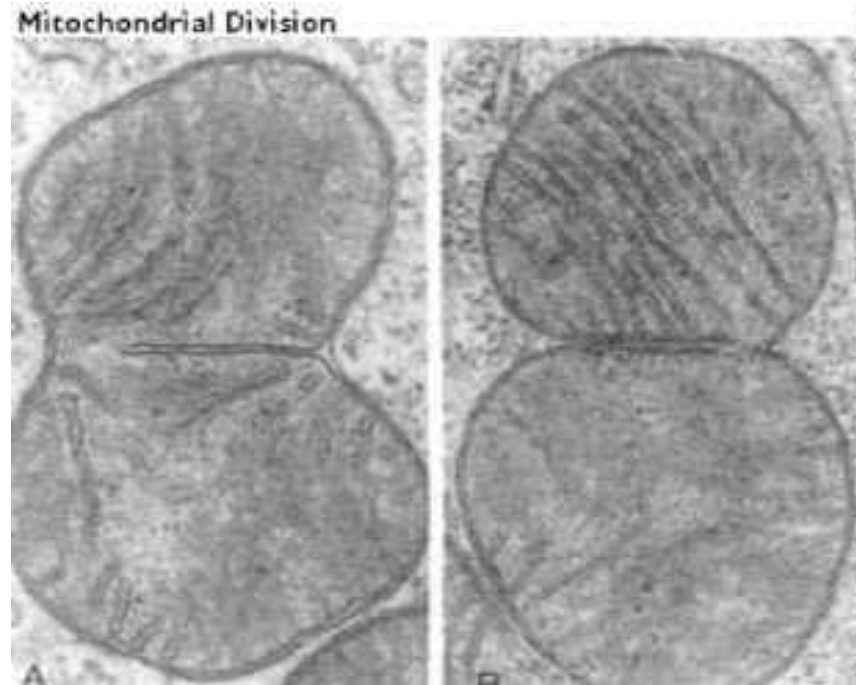
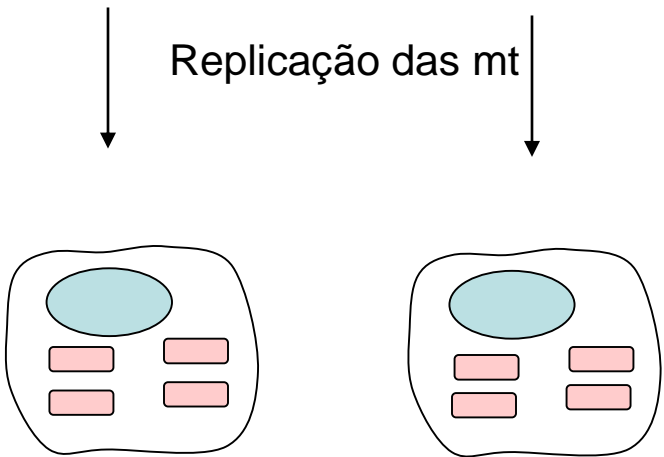
Replicação das mitocôndrias



Divisão celular: distribuição das mt entre as células filhas



Replicação das mt



Mitocôndria replica como uma célula de bactéria. Antes de se dividir mt replica o seu DNA.

I.7.1 DNA mitocondrial (mtDNA)

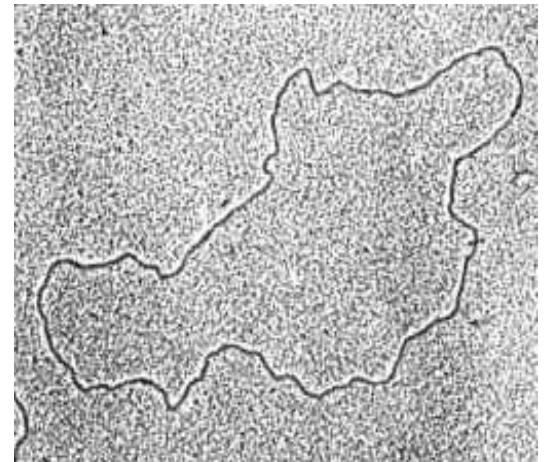
Circular, várias cópias, cadeia dupla de replicação independente do DNA nuclear;

Genes sem introns em animais, alguns genes com introns em fungos e plantas;

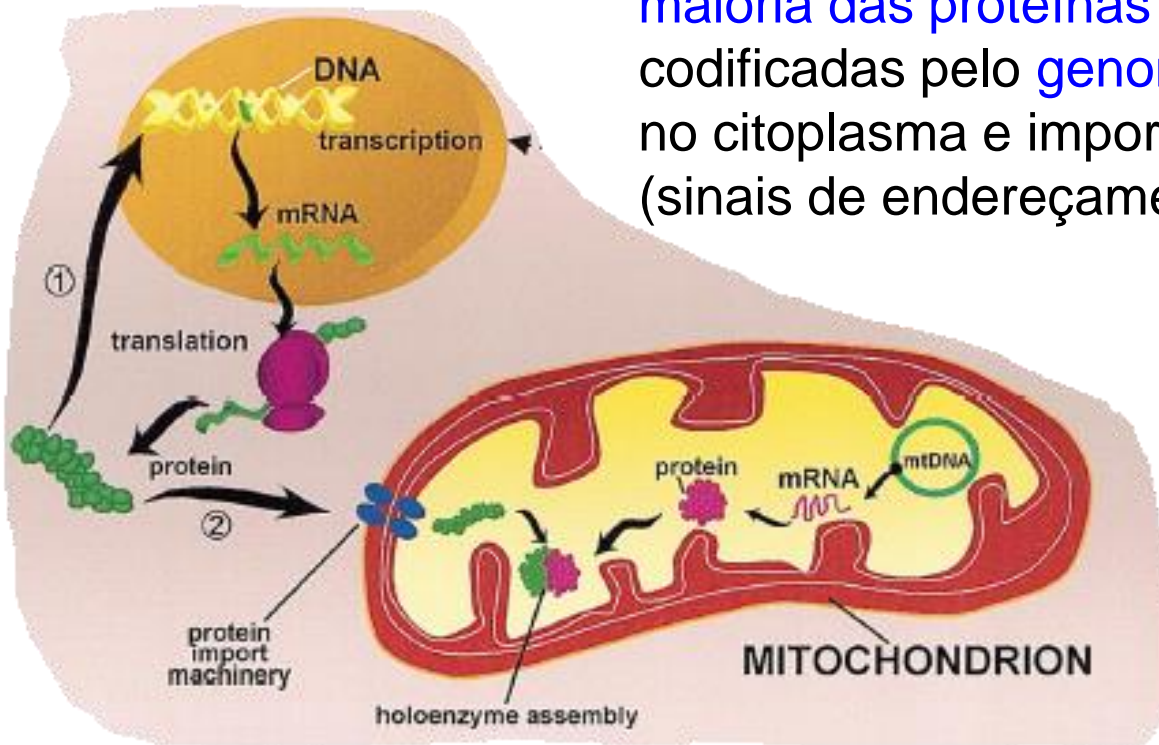
Origem exclusivamente materna (as mitocôndrias do organismo se originam das mitocôndrias do gameta feminino);

Codifica a sequência de aminoácidos de algumas das proteínas mitocondriais;

Codifica três tipos de RNA (mRNA, tRNA, rRNA).



Apesar de apresentar seu próprio genoma, a maioria das proteínas mitocôndrias são codificadas pelo genoma nuclear, traduzidas no citoplasma e importadas para a mitocôndria (sinais de endereçamento).

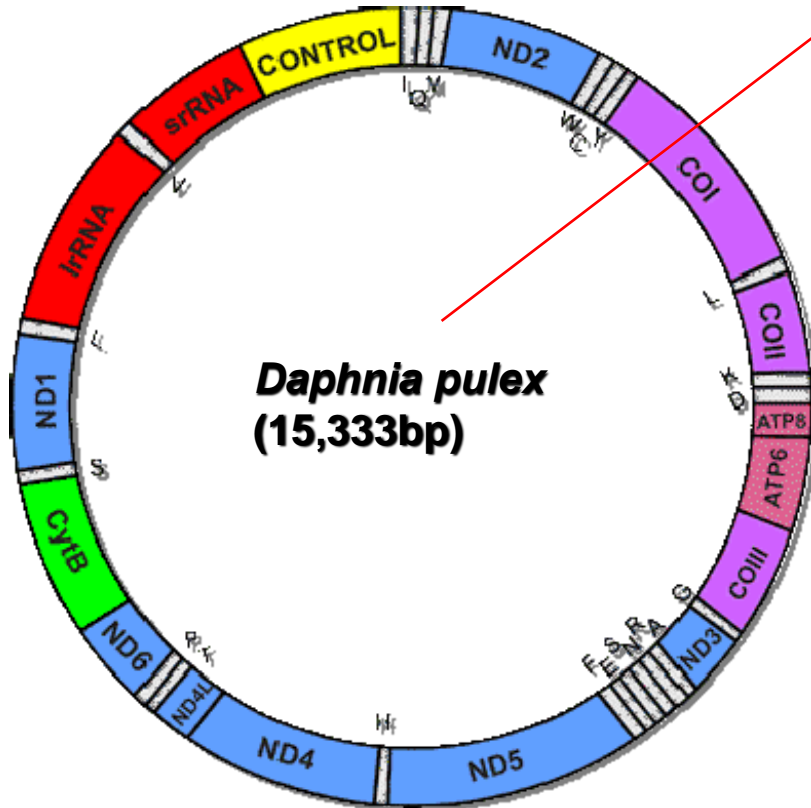


Enzimas do complexo piruvato desidrogenase, as responsáveis pelo ciclo de Krebs e pela β -oxidação dos ácidos graxos, muitas das proteínas que participam da fosforilação oxidativa, os canais iônicos e as permeases da membrana interna, a DNA polimerase, a RNA polimerase, as proteínas ribossomais mitocondriais, e etc.

Genoma mitocondrial de animais



Organismo aquático

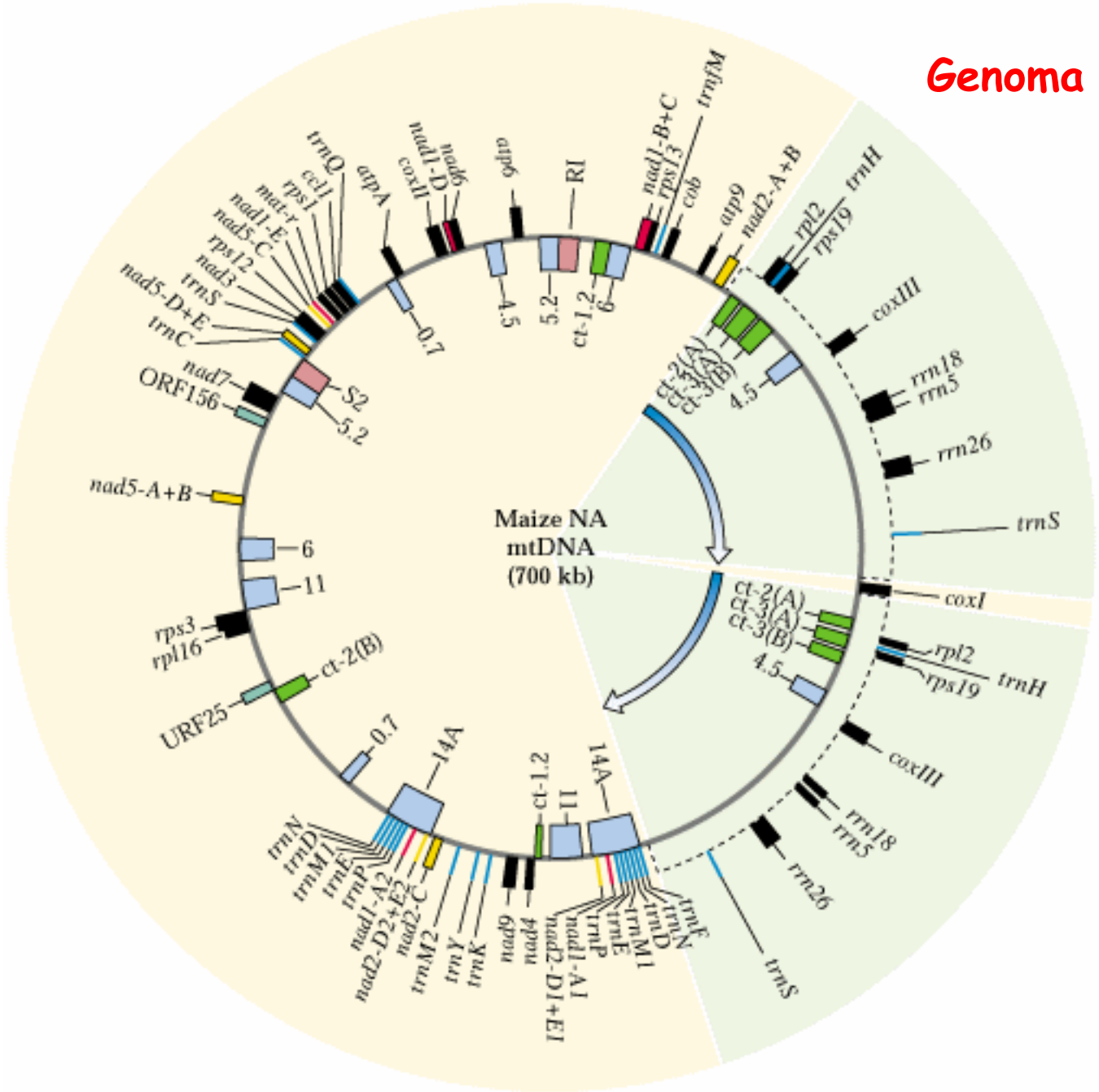


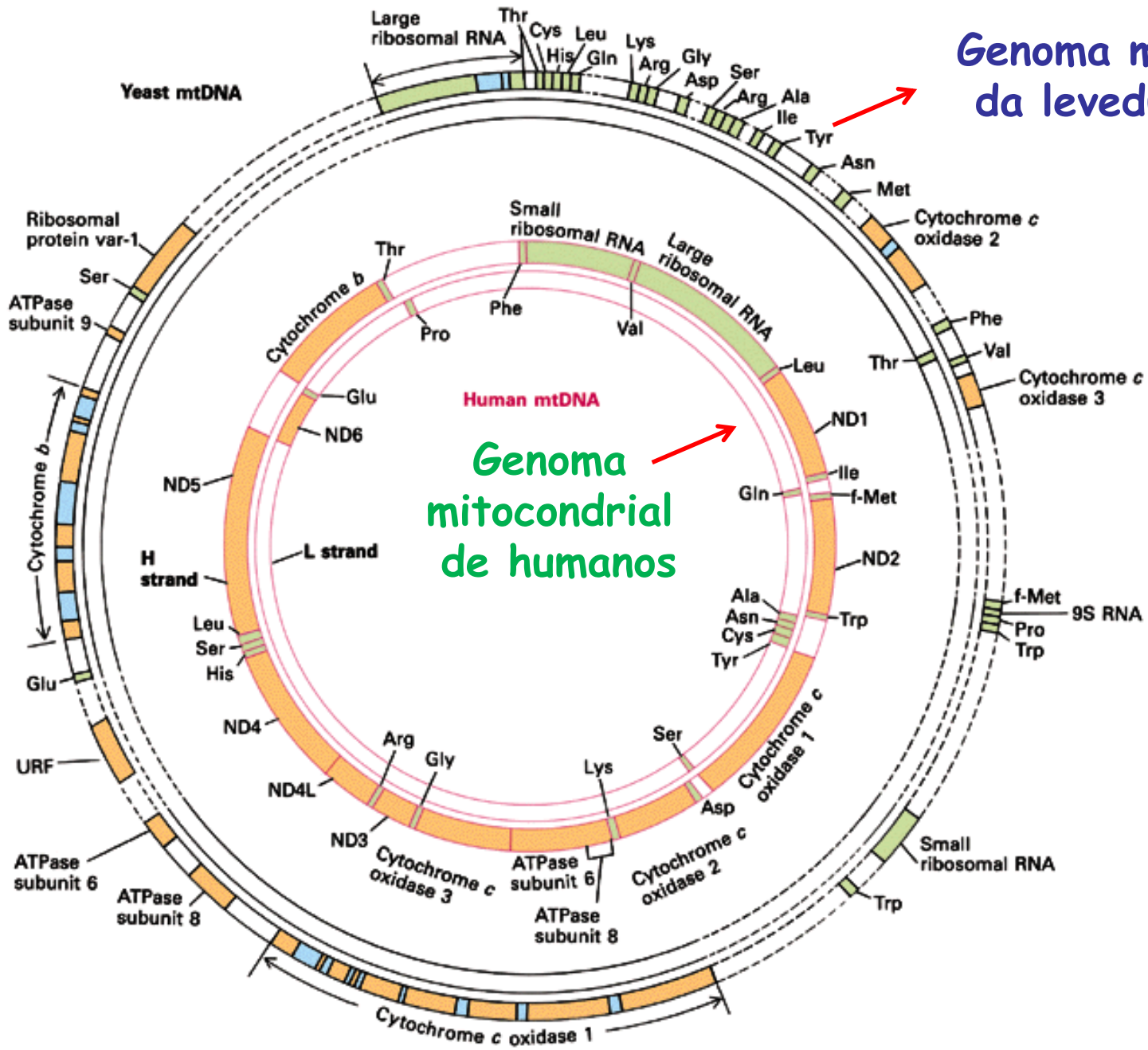
- 14kb - 42kb; múltiplas cópias (4-5 cópias);
- apresentam os mesmos 37 genes:
 - rRNA12S e 16S,
 - 13 mRNA para síntese de proteínas,
 - 22 tRNAs;
- Pouca região intergênica;
- Genes sem introns;
- Código genético especial (4 dos 64 códons apresentam significados diferentes do código universal).

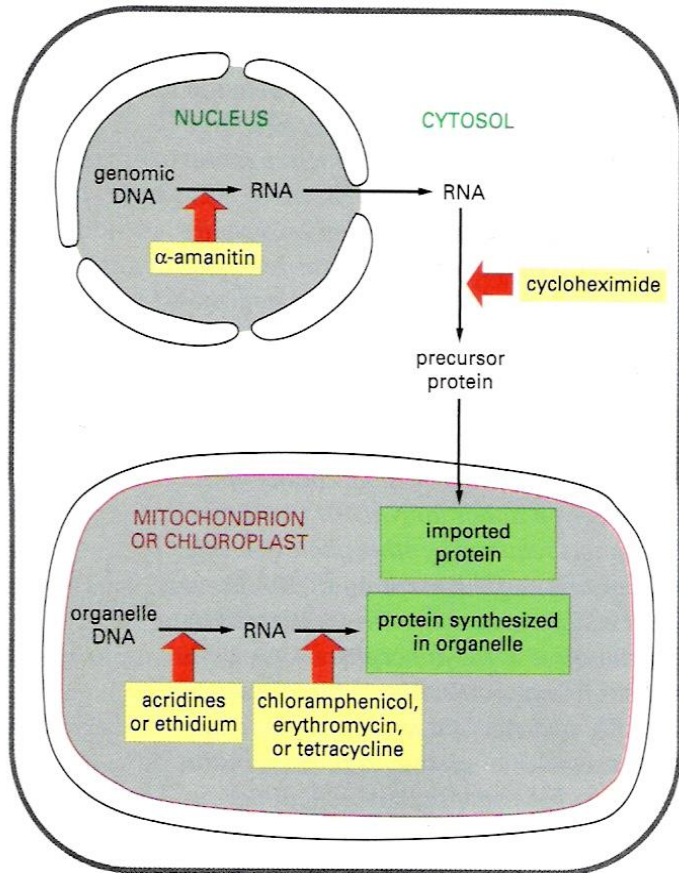
Genoma mitocondrial de plantas

- 200-2000 kb, altamente variável entre espécies;
- Organizados em círculos de tamanhos diferentes, algumas vezes com plasmídeo;
- Contém sequências de DNA de cloroplasto, indicando troca de material genético entre as organelas em plantas;
- Maioria do mtDNA é não codificador;
- As regiões codificadoras são maiores do que em animais e fungos;
- Número de proteínas 'variável', codificando mais proteínas do que animais e leveduras (em torno de 50 proteínas).

Genoma mitocondrial de milho







Fato importante: a síntese de proteínas nos ribossomos da mitocôndria pode ser inibida pelo antibiótico cloranfenicol o que não ocorre com a síntese de proteínas extramitocondriais.

OBS: Como poderíamos provar que uma determinada proteína foi codificada pelo DNAm_t ou pelo DNA nuclear? (Ex: citocromo c).

Resposta: O citocromo c não tem sua síntese inibida pelo cloranfenicol mas sim pela cicloheximida, portanto origina-se no citoplasma.

II. Cloroplastos

São um tipo de plastídio que contém clorofila e neles ocorre a fotossíntese;

A fotossíntese produz o oxigênio e a maior parte da energia química utilizada pelos organismos vivos.

II.1 Estrutura e organização molecular

Forma e tamanho variáveis nas diferentes células e espécies (forma discóide, ovóide ou esférica).

Em geral, têm forma de disco com diâmetro 4 a 6 μm .

Vegetais superiores apresentam de 20 a 40 cloroplastos por célula; Algas apresentam 1 ou 2 grandes cloroplastos.

Composto por 3 partes:

1) **Envoltório:**

Duas membranas: interna e externa, ambas desprovidas de clorofila ou citocromo, mas com pigmentos carotenóides.

2) **Estroma**:

Representa a maior parte do cloroplasto e nele se encontram imersos os tilacóides;

Composto principalmente por proteínas;

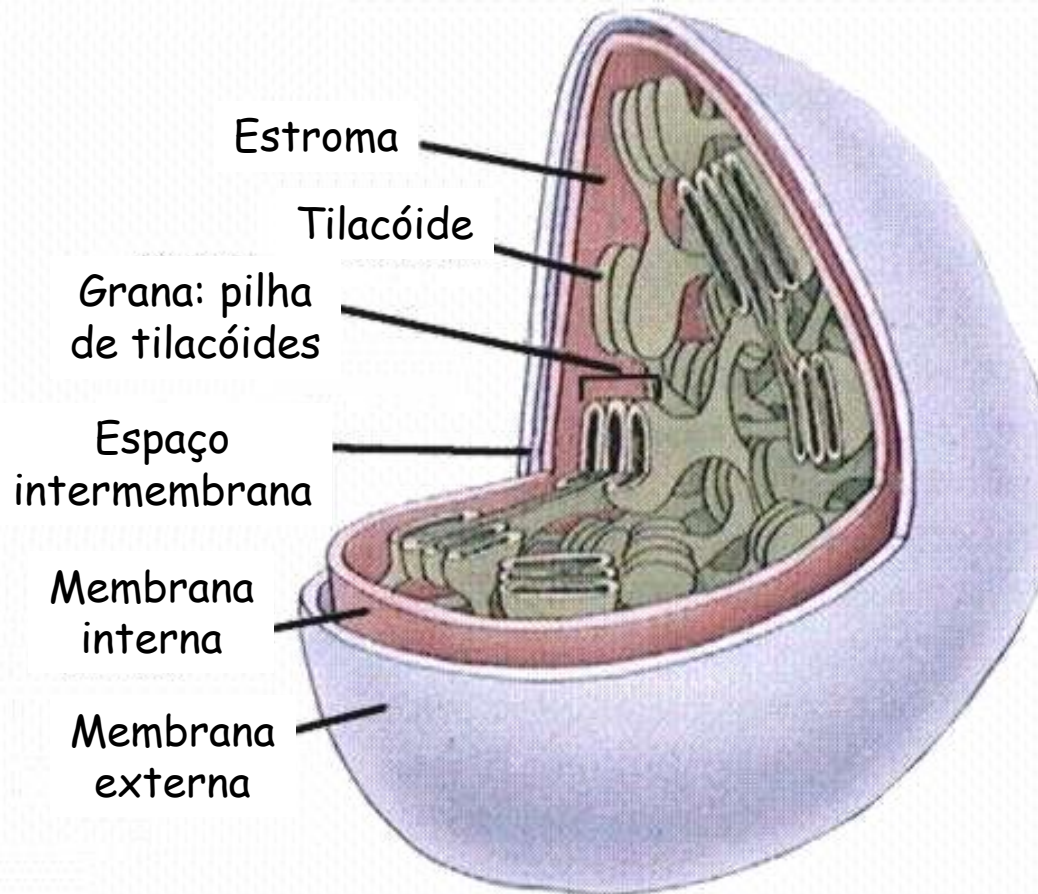
Contém DNA e RNA que intervêm na síntese de algumas proteínas estruturais e enzimáticas do cloroplasto. É no estroma que se produz a fixação do carbono, síntese de ácidos graxos e proteínas.

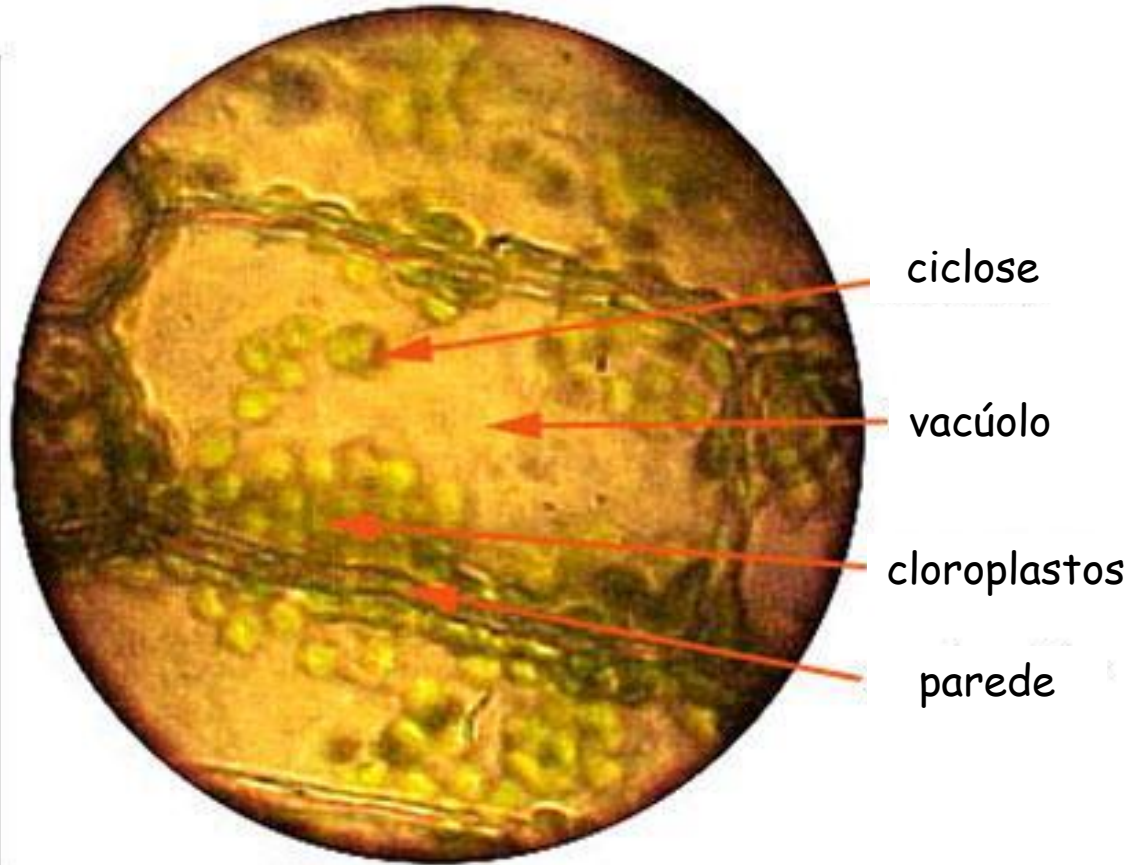
3) **Tilacóides**:

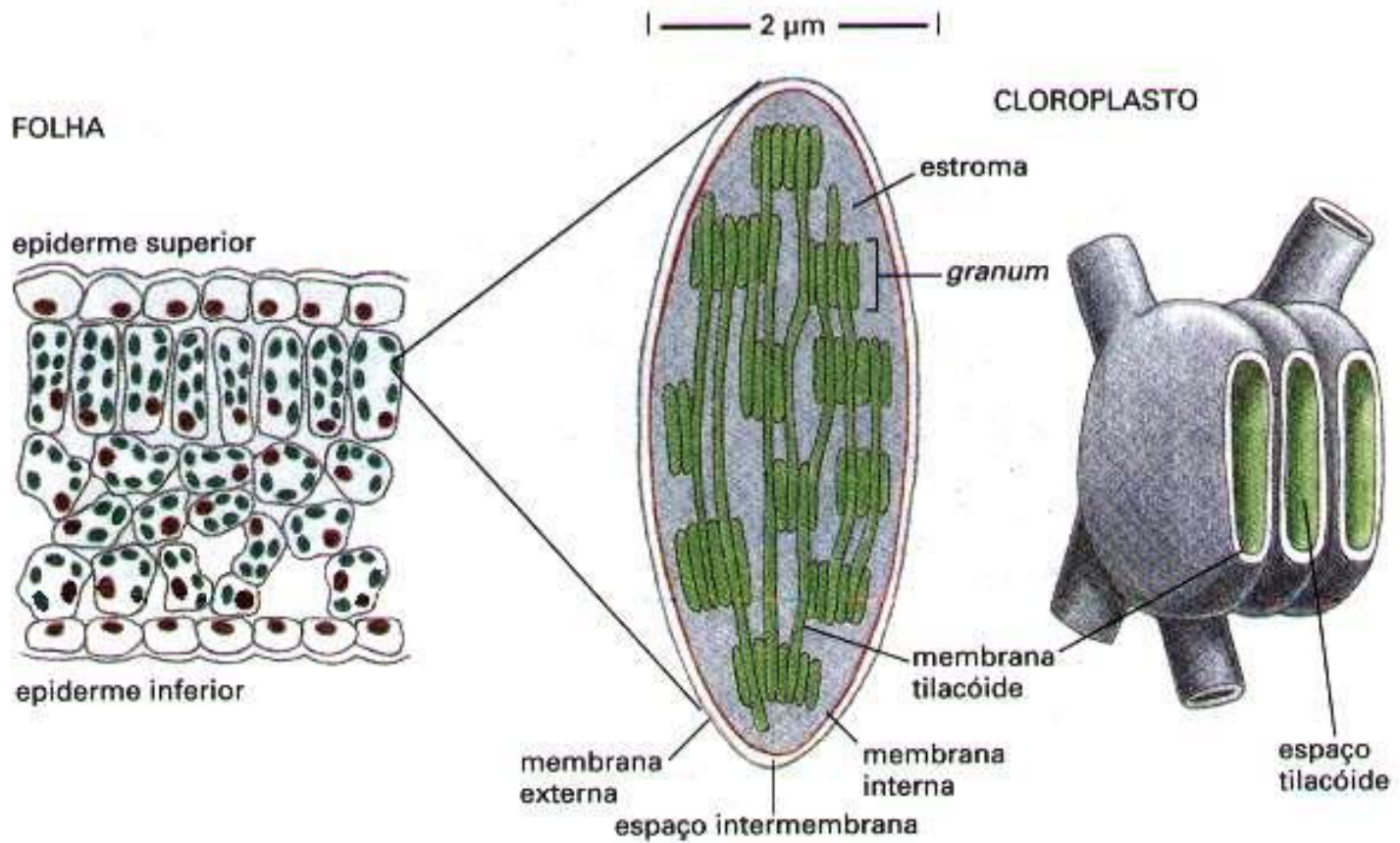
Sacos achatados agrupados como pilhas de moedas. Cada pilha recebe o nome de granum (plural grana). Os tilacóides dos granum se conectam por tilacóides do estroma;

Membrana do tilacóide é uma dupla camada lipídica repleta de proteínas e de outras moléculas quase todas envolvidas nas reações químicas da fotossíntese.

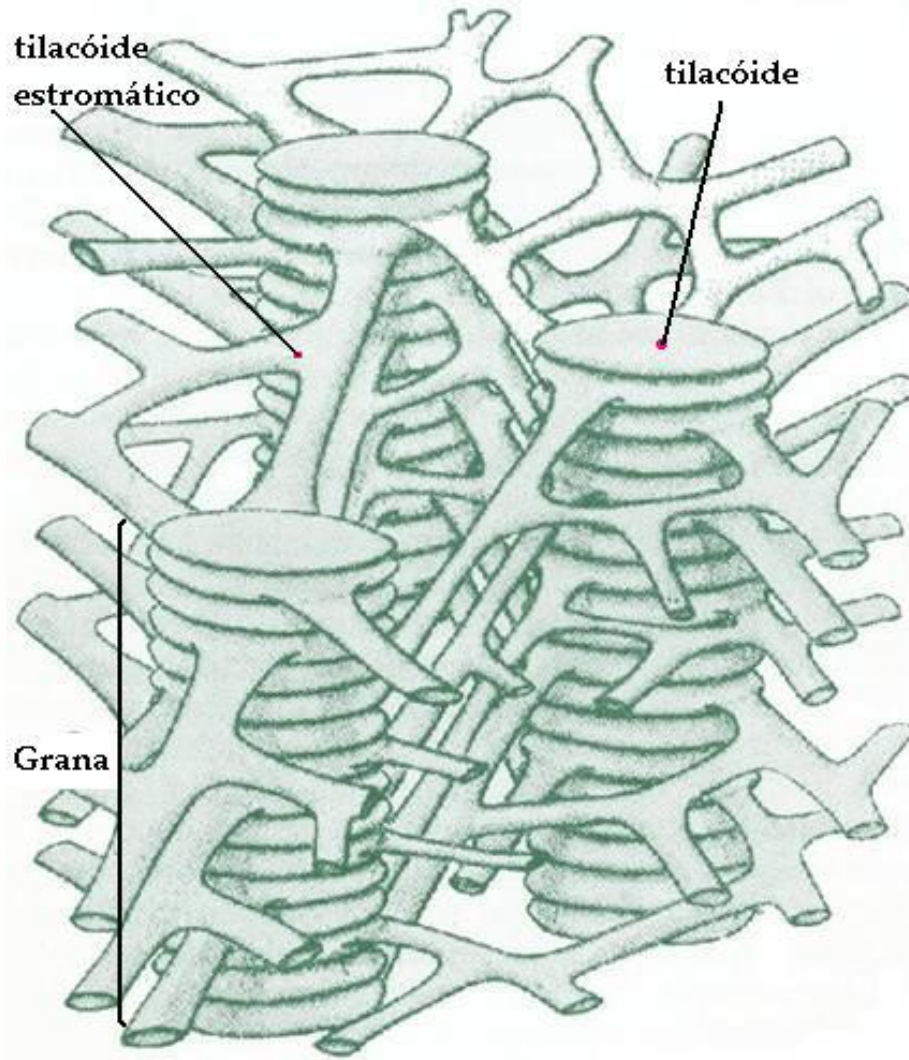
Cloroplasto







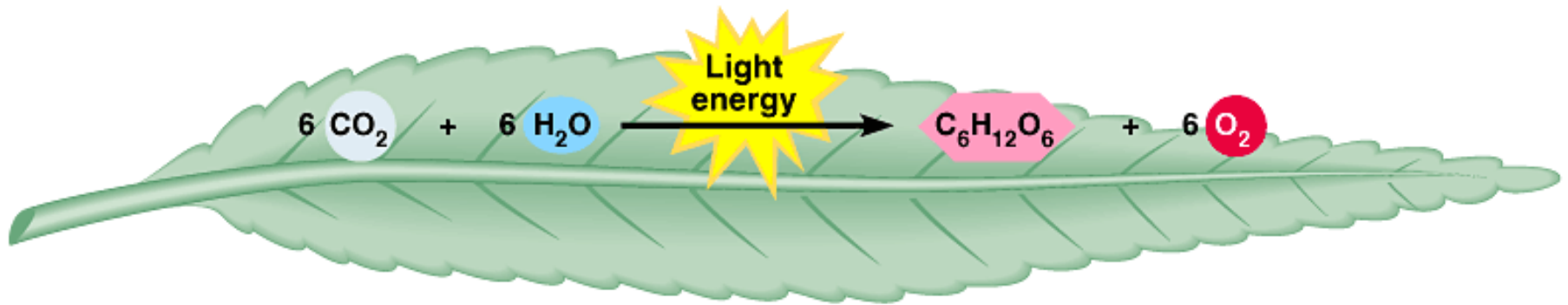
Organização dos tilacóides



II.2 Função dos cloroplastos

Fotossíntese;

Plantas, algumas bactérias e protistas.



Fotossíntese é o processo em que os organismos autotróficos utilizam luz para produzir açúcar e O_2 a partir de água e CO_2 .

Os carboidratos formados pela fotossíntese são sacarídeos solúveis que circulam pelos diferentes tecidos da planta ou se acumulam como grãos de amido nos cloroplastos, ou mais frequentemente nos amiloplastos.

Cloroplastos contém vários pigmentos:

Clorofila a (3 tipos que são caracterizados por suas composições químicas, seus espectros de absorção de luz e suas funções):

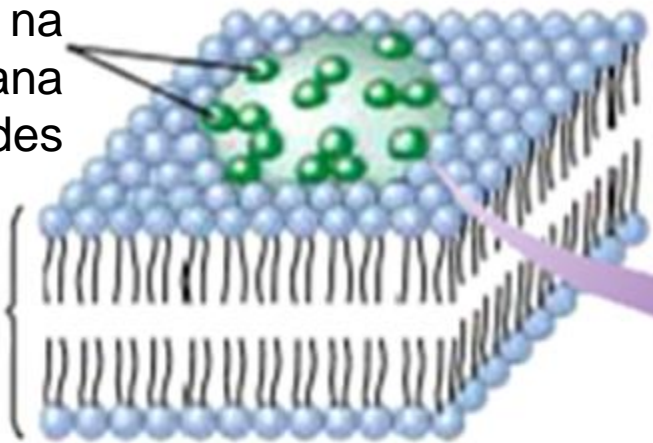
- um tipo mais abundante capta a energia luminosa;
- dois tipos especiais: P680 e P700 menos numerosos.

Clorofila b

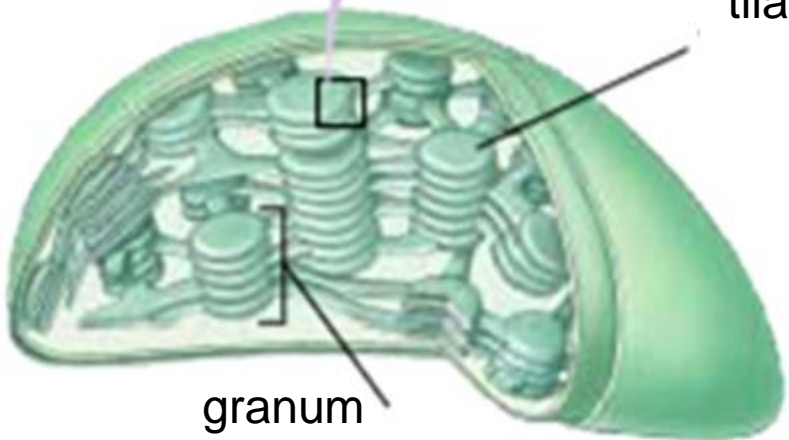
Carotenóides

*As clorofilas b, c e d atuam como **pigmentos acessórios na fotossíntese**, ajudando a ampliar a faixa de luz que pode ser utilizada nesse processo, complementando a captação de luz. Além dessas clorofilas, os carotenoides e ficobilinas também são considerados pigmentos acessórios.*

Clorofila embebida na membrana dos tilacóides



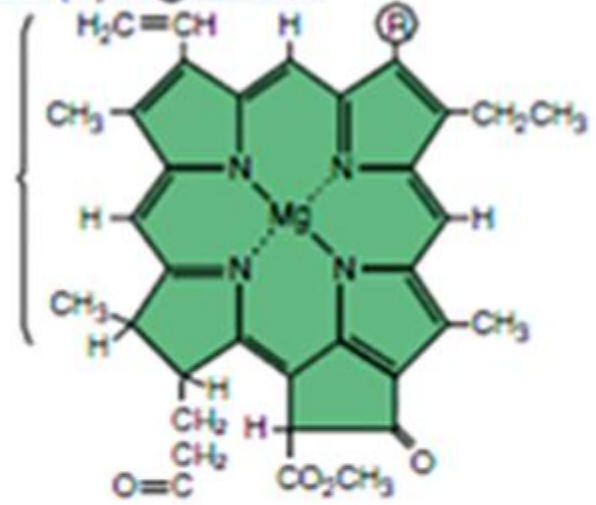
tilacóide



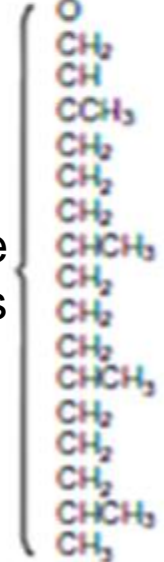
granum

tilacóide

Chlorophyll a: $\text{R} = -\text{CH}_3$
 Chlorophyll b: $\text{R} = -\text{CHO}$



Cauda de hidrocarbonetos



II.3 Reações fotoquímicas

1. **Fotossistema II:** com dois setores definidos

- a) Antena → setor voltado para o estroma e se encarrega de captar a luz (composta de agregados de proteínas e pigmentos clorofila a, clorofila b e carotenóides);
- b) Centro de reação → voltado para o espaço tilacoidal (contém clorofilas P680).

2. **Complexo b-f:** contém uma proteína associada aos citocromos b e f, e uma proteína com um centro Fe-S.

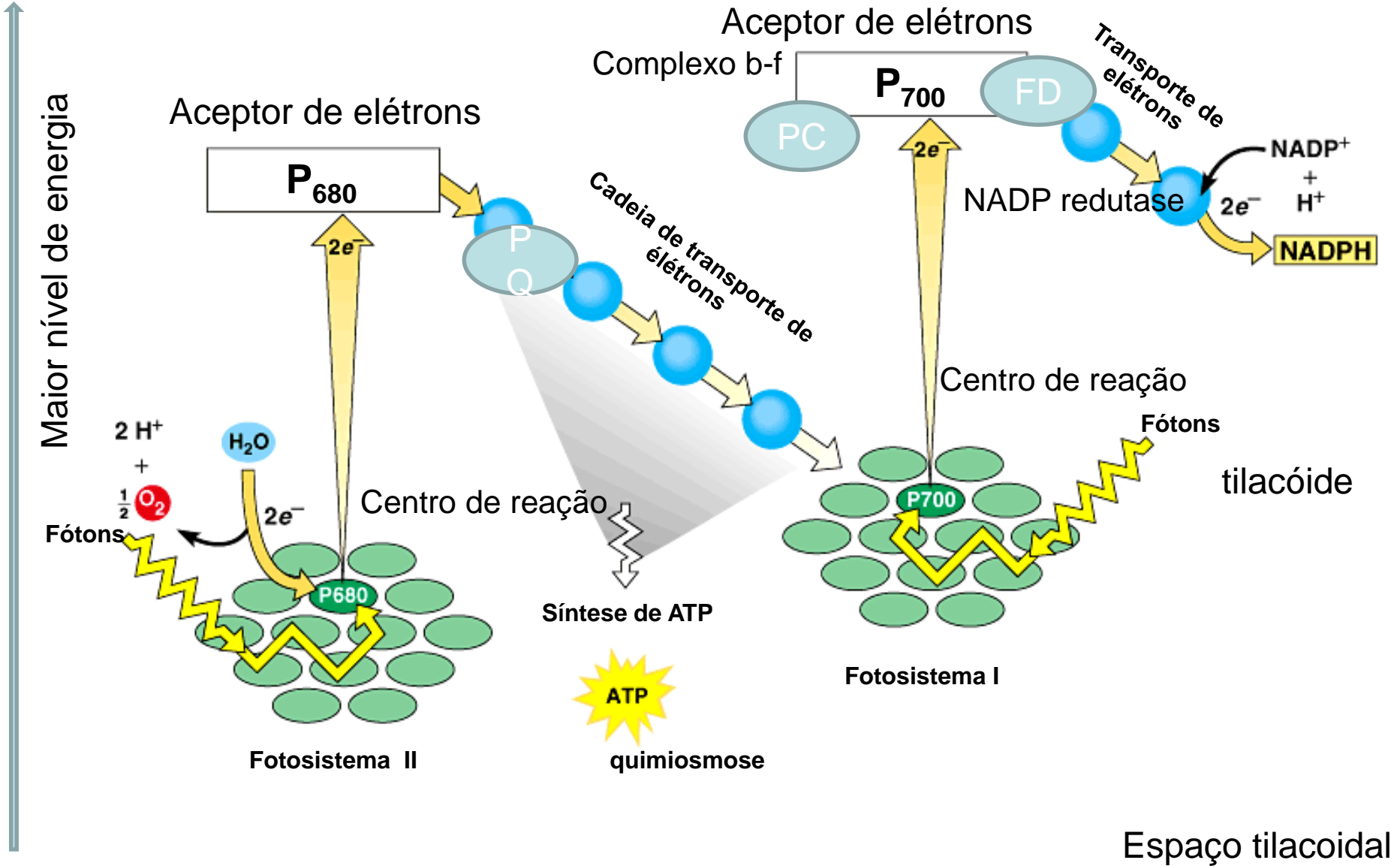
3. **Fotossistema I:** com dois setores definidos

- a) Antena → setor voltado para o estroma e se encarrega de captar a luz (composta de agregados de proteínas e pigmentos clorofila a, clorofila b e carotenóides);
- b) Centro de reação → voltado para o espaço tilacoidal (contém clorofilas P700).

4. **NADP redutase:** reduz o NADP^+ extraído do estroma e o converte em NADPH.

Entre os complexos moléculas intermediárias carreadoras de elétrons:
PQ (plastoquinona); PC (plastocianina); Fd (ferredoxina).

estroma



Maior nível de energia

Aceptor de elétrons

P₆₈₀

2e⁻

P_Q

Cadeia de transporte de elétrons

Aceptor de elétrons

Complexo b-f

P₇₀₀

NADP reductase

Transporte de elétrons

NADP⁺

+ H⁺

NADPH

Centro de reação

Fótons

tilacóide

2 H⁺
+
 $\frac{1}{2}$ O₂

H₂O

2e⁻

Centro de reação

P₆₈₀

Síntese de ATP

ATP

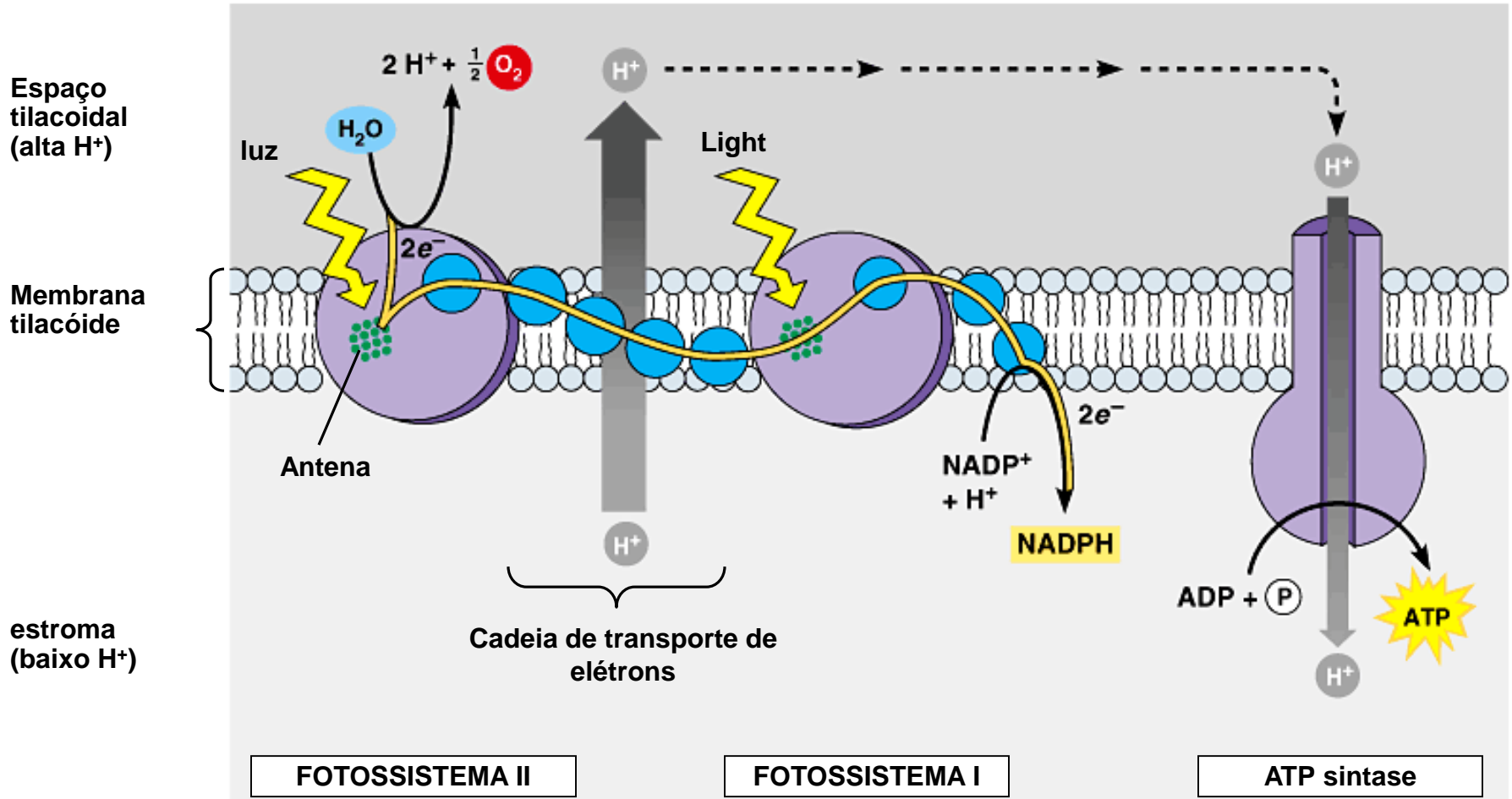
quimiosmose

Fotosistema I

Fotosistema II

Espaço tilacoidal

<http://highered.mcgraw-hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::535::535::/sites/dl/free/0072437316/120072/bio13.swf::Photosynthetic%20Electron%20Transport%20and%20ATP%20Synthesis>



II.4 Reações na ausência de luz

Na ausência de luz, as moléculas de ATP e NADPH produzidas pelas reações fotoquímicas proporcionam a energia necessária para sintetizar carboidratos a partir de CO_2 e H_2O ;

Ocorre no estroma do cloroplasto:

Ciclo de Calvin – Fixação do Carbono

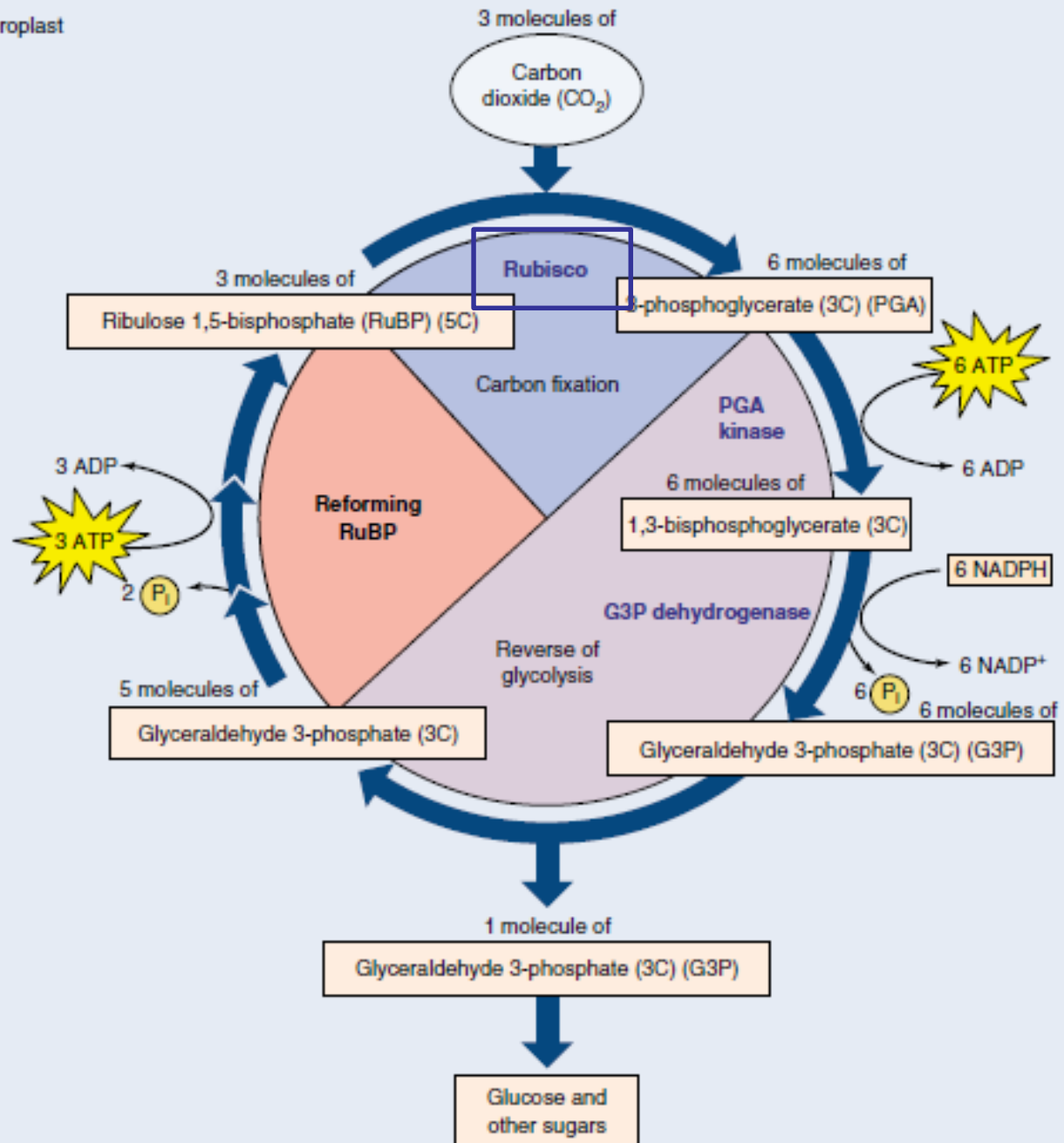
Onde:

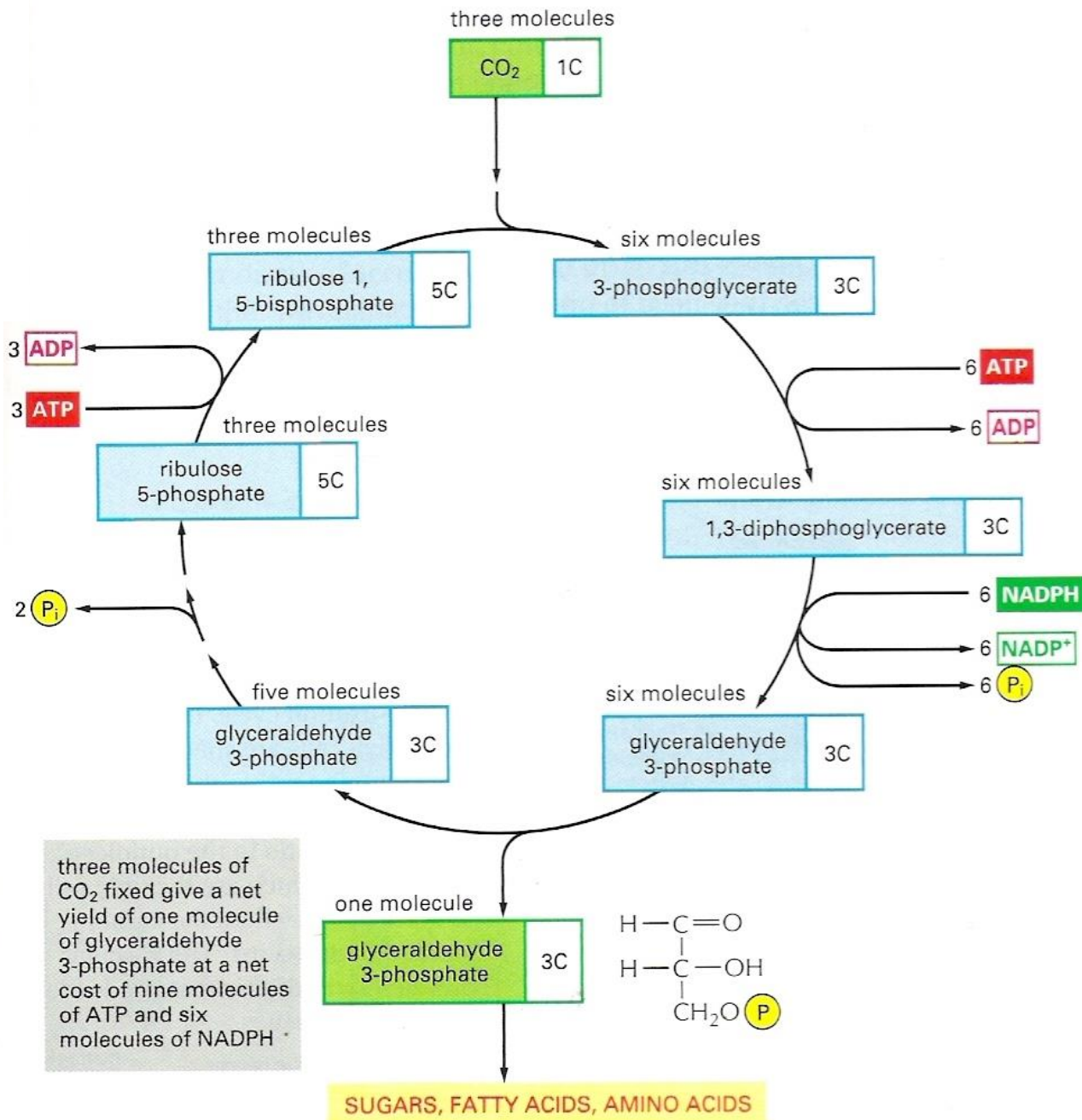
3 ATP e 2 NADPH são consumidos para cada CO_2 fixado;

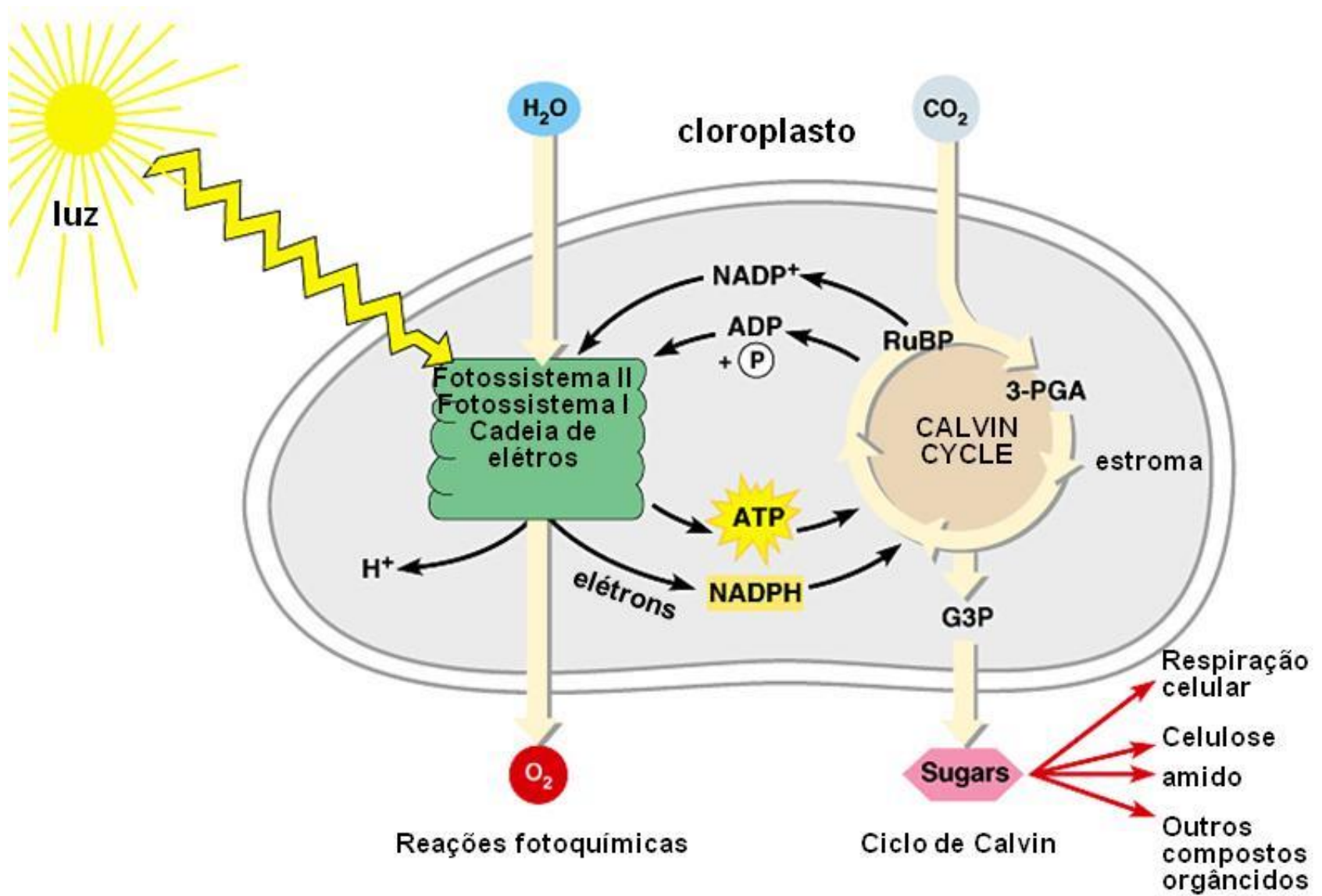
O ATP é a fonte de energia;

O NADPH é a fonte de redução.

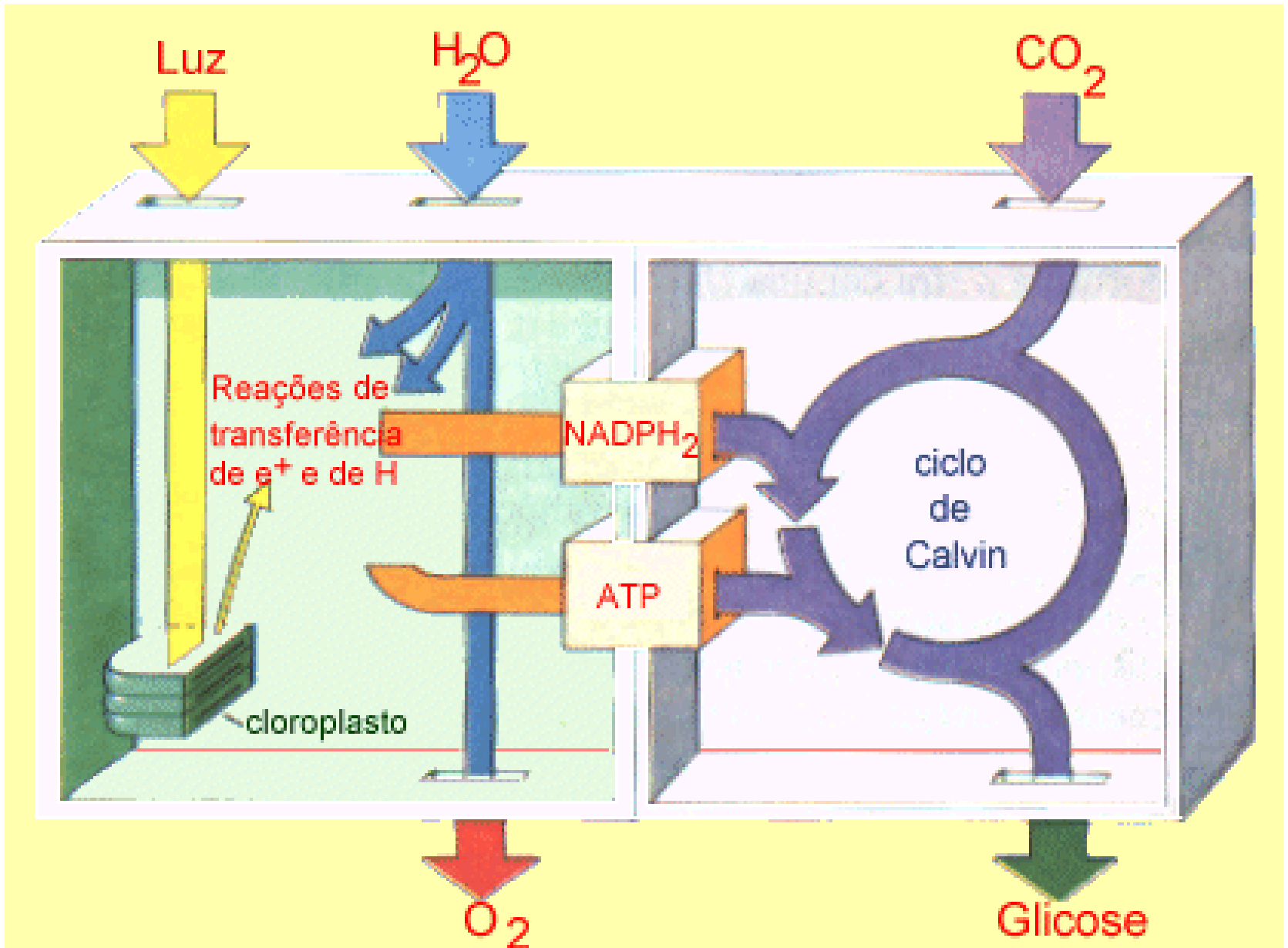
Stroma of chloroplast



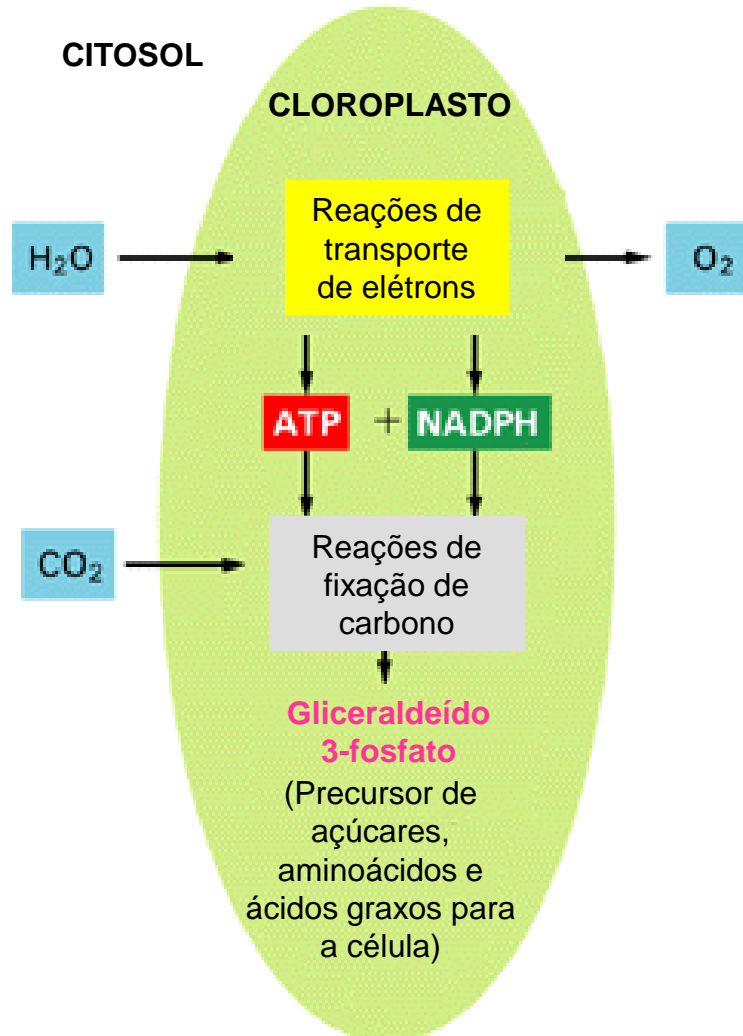




Fotossíntese



Fotossíntese

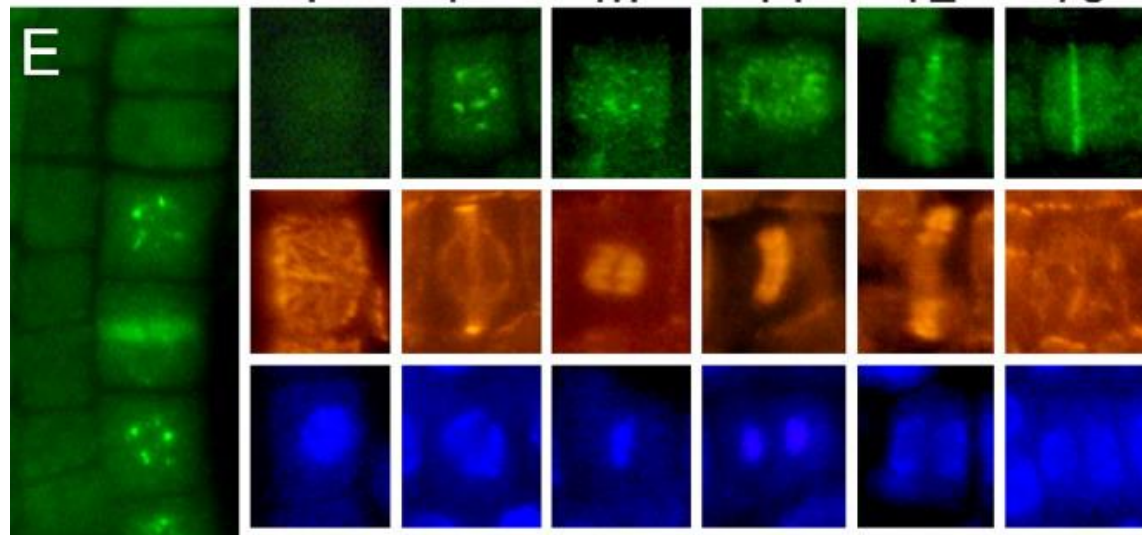


II.6 Duplicação dos cloroplastos

Do mesmo modo que as mitocôndrias, se multiplicam por fissão binária;

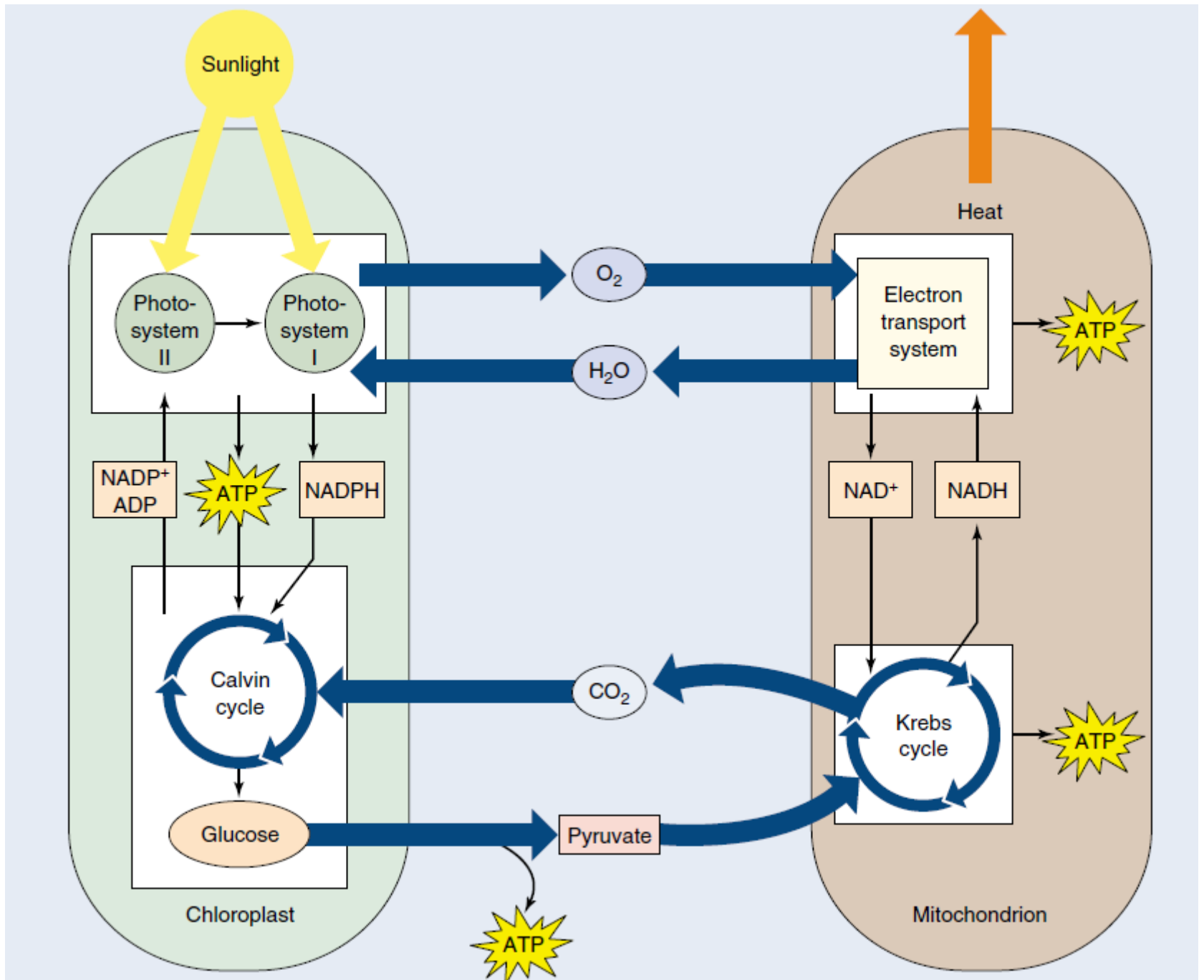
Divisão envolve genes do próprio cloroplasto assim como genes nucleares;

O cloroplasto contém DNA, RNA e os demais componentes que intervêm na síntese protéica. No entanto, a maioria das proteínas necessárias são traduzidas no citoplasma.



Genoma de cloroplastos

- utiliza o código universal;
- maior que o mtDNA;
- circular (45 μm) (~ 135.000 pares de bases) e múltiplas cópias;
- genes para transcrição e tradução;
- genes para: rRNA, proteínas de transcrição e tradução, fotossíntese e transporte de elétrons;
- alguns genes apresentam introns.



Estudo dirigido:

1. Estrutura das mitocôndrias.
2. Função das mitocôndrias e as características da membrana.
3. As etapas da respiração e a localização de cada etapa na estrutura da mitocôndria.
4. Genoma mitocondrial. Características.
5. Estrutura dos cloroplastos.
6. Função dos cloroplastos e as características da membrana.
7. Etapas da fotossíntese e a localização de cada etapa na estrutura do cloroplasto.
8. Genoma dos cloroplastos. Características.